

**Das Verhalten der Phosphatide Colaminkephalin,
Lecithin und Sphingomyelin in den Nebennieren
von Ratten nach Formalin-Vergiftung mit und
ohne Cortison-Behandlung**

JÜRGEN SEMRAU

1970

Aus der Medizinischen Poliklinik
der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

**Das Verhalten der Phosphatide Colaminkephalin,
Lecithin und Sphingomyelin in den Nebennieren
von Ratten nach Formalin-Vergiftung mit und
ohne Cortison-Behandlung**

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwigs-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
JÜRGEN SEMRAU
aus Memmingen

München 1970



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. W. SEITZ

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. D. EBERHAGEN

Dekan: Prof. Dr. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 6. Oktober 1970

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548322_0035

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
Organaktivität und Gesamtlipoidgehalt der Nebenniere	
Das Verhalten der Cholesterinester und ihrer Fettsäuren	
Das Verhalten der Phosphatide und ihrer Fettsäuren	
PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG	13
BESCHREIBUNG DER VERSUCHE	15
Vorbereitung der Tiere	15
Gewinnung und Reinigung der Gesamtlipoide	16
Auftrennung der Gesamtlipoide	17
Gewinnung der Fettsäuremethylester	18
Gaschromatographische Untersuchung der Fettsäuremethylester	20
Bestimmung der spezifischen Radioaktivität	21
Reagenzien	21
ERGEBNISSE	22
Untersuchungen nach Formalin-Vergiftung ohne Cortisongabe	23

Untersuchungen nach Formalin-Vergiftung mit
anschließender Cortisonbehandlung

41

DISKUSSION

59

Das Verhalten der Phosphatide und ihrer Fett-
säuren nach Formalin-Vergiftung ohne Cortisongabe
Das Verhalten der Phosphatide und ihrer Fett-
säuren nach Formalin-Vergiftung mit anschließen-
der Cortisonbehandlung

ZUSAMMENFASSUNG

71

LITERATURVERZEICHNIS

73

LEBENS LAUF

E I N L E I T U N G

Nach ersten geschichtlich bekannten Hinweisen auf Fetteinlagerungen in die Nebennieren durch SIMON und ECKER (1846), durch VIRCEOW (1857) und MOERS (1864), konnten ROSENFELDM und TERRE (1909) die wichtigsten Lipoidkomponenten isolieren und einen auffallend hohen Cholesteringehalt nachweisen. Viele Autoren betrachteten damals das Vorhandensein von Fett im Gewebe der Nebennieren als Degenerationerscheinung. Erst WHITE (1909) vermutete, daß Einlagerungen von Lipoiden in der Nebenniere physiologischer Natur sind und deutete an, daß die Nebennieren möglicherweise aktiv Cholesterin, Lecithin und Neutralfette sezerniert. Etwa um die Jahrhundertwende begannen BERNARD und BIGART (1902) mit histologischen Untersuchungen an Nebennieren mit und ohne Stimulierung der Organaktivität.

Diese und ähnliche Versuche anderer Autoren nahmen GOORMAGHTIGH und ELAUT (1925) zum Anlaß, die These aufzustellen, daß die Nebennierenzellen die Lipide zum Aufbau der Rindenhormone (Kortikoide) verwenden. Dabei werden bei hoher Synthese- und Sekretionsrate der Kortikoide die Rindenzellen von Lipoiden entspeichert. In Zeiten relativ geringer Nebennierenaktivität werden die Lipide dann für den Bedarfsfall ge-

speichert. Muß aber die Ausschüttung der Rindenhormone über einen längeren Zeitraum in gesteigertem Maße aufrechterhalten werden, kommt es zur Erschöpfung der Fettreserven, die sich auch im histologischen Bild als Entspeicherung in der Nebennierenrinde darstellt. Dieser Zusammenhang zwischen Lipidgehalt und Organaktivität wurde in der Folgezeit durch zahlreiche weitere Untersuchungen bestätigt (siehe Übersicht WOLMAN 1964) und von SELYE (1936, 1937) in seiner Theorie des dreiphasigen "allgemeinen Adaptationssyndroms" zusammengefaßt. Dieses Syndrom stellt sich in drei Stufen dar, ungeachtet der Art des Reizes:

- 1) Allgemeine Alarmreaktion (6.- 48. Stunde nach Insult)
Nebennieren reagieren mit Entspeicherung der Lipide
- 2) Adaptation (48 Stunden nach Insult)
Nebennieren sind noch vergrößert, speichern aber wieder Lipide
- 3) Erschöpfungsphase
Sie tritt ein, wenn Noxe extrem lange einwirkt

KAISERLING war wahrscheinlich der erste, der 1895 das Vorhandensein von anisotropen Tröpfchen in der Nebenniere beschrieb. Es folgten ORGLER (1898) und HERRMANN (1906), die die Beobachtung von KAISERLING bestätigten und durch verschiedene histochemische Tests sowohl unter normalen als auch pathologischen Bedingungen die Nebennierenlipide genau untersuchten. BOURNE (1955) faßt diese Ergebnisse wie folgt zusammen: die Nebennierenlipide sind sudanophil, osmiophil, färben sich durch die WEIGERT'sche Myelinfärbung, durch die BAKER'sche Phospholipid-Methode und enthalten Cholesterin, das durch die SCHULTZ'sche Methode färbbar ist und Digitonide verändern kann. Es zeigte sich, daß sich das Cholesterin und seine Ester von den anderen Lipiden durch eine charakteristische Anisotropie unterscheiden, wie sie bereits bei vorstehend

erwähnten Autoren beschrieben wurde. Damit lag die Frage nach der Herkunft des Cholesterins nahe. Die Antwort fanden SRERE und Mitarbeiter (1948). Sie konnten nachweisen, daß es in der Nebenniere selbst aus Acetat synthetisiert wird. Davon ausgehend unternahmen ZAFFARONI und Mitarbeiter (1951) und HECHTER und Mitarbeiter (1954) Perfusionsversuche an Rindernebnennieren mit ^{14}C -Acetat und ^{14}C -Cholesterin als Substrat, wobei radioaktiv markiertes Hydrocortison und Cortison im Perfusat nachgewiesen wurden. Damit war der Beweis erbracht, daß das Cholesterin als direkter Vorläufer der Kortikoide anzusehen ist.

POPJAK (1944) wies darauf hin, daß der größte Teil des in den Nebennieren vorhandenen Cholesterins nicht in freier, sondern in Esterform vorliegt und stimmt darin mit den von ROSENHEIM und TEBB (1909) erhobenen Befunden überein. In diesem Zusammenhang führte POPJAK die experimentell erzeugten Schwankungen des Cholesteringehaltes auf Schwankungen der Cholesterinester zurück. Der Gehalt an freiem Cholesterin blieb auffallend konstant. DAILEY und Mitarbeiter (1960) erschien es demnach wahrscheinlich, daß als Ausgangsprodukte der Kortikoidsynthese die Cholesterinester in Frage kommen. So gelang ihnen 1963 der Nachweis, daß bei der Inkubation mit Nebennierenhomogenat besonders das mit ungesättigten Fettsäuren veresterte Cholesterin in markierte Kortikoide umgesetzt wurde. Japanischen Autoren halten dabei das Cholesterinarachidonat für den eigentlichen Vorläufer der Nebennierenrindenhormone (FUKUDA 1965; MURAOKA 1965) im Gegensatz zu DRAYER und LIEBERMAN (1965), die annehmen, daß das Cholesterin in das Sulfat als der primär aktiven Stoffwechselform übergeführt werden muß, wenn es im Organismus zu anderen Verbindungen umgesetzt werden soll.

Große Bedeutung kommt dabei den essentiellen Fettsäuren Linol-, Linolen- und Arachidonsäure zu, die zur Aufrechterhaltung vieler biologischer Funktionen unbedingt erforder-

lich sind (Vitamin F). Allein wirksam ist wahrscheinlich nur die Arachidonsäure, die der Organismus durch Umwandlung der Linolsäure in den Geweben gewinnt (Linolat + Acetat $\rightarrow$ Arachidonat). Aus ihr synthetisiert der Organismus durch Kettenverlängerung und Dehydrierung die hochungesättigten Fettsäuren. Ein Mangel an essentiellen Fettsäuren führt bei Ratten und Mäusen zu einer Hemmung und nach acht bis zehn Wochen zu einem Stillstand des Wachstums. Nach langem stationären Zustand tritt progressive Abmagerung und schließlich der Tod ein (DEUEL 1950). Der Organismus versucht in einer solchen Lage, andere Vorläufer als die Linolsäure zur Synthese der Polyensäuren einzusetzen und geht von der Öl- oder der Stearinsäure aus (KLENK und PFLÜGER 1963). Es kommt dabei in allen Geweben zur Anreicherung von $\Delta 5,8,11$ -Eikosatriensäure. Normalerweise findet sie sich im Körper nur in sehr geringen Mengen und dementsprechend auch in den Nebennieren (KLENK und EBERHAGEN 1960).

Eine Beziehung zwischen den essentiellen Fettsäuren und den sich von ihnen ableitenden hochungesättigten Fettsäuren einerseits und der Hormonsynthese in der Nebenniere andererseits entdeckten TAMAKI (1965), MURAOKA (1965) und FUKUDA (1965) bei in-vivo-Versuchen mit Ratten. Hierbei war sowohl die Kortikoidgrundsekretion als auch der Kortikoidausstoß nach ACTH-Gabe bei Vitamin F-Mangeltieren gegenüber Kontrolltieren stark erniedrigt. HIKASA und Mitarbeiter (1963) machten für diese Funktionseinbuße den Mangel an Cholesterinarachidonat verantwortlich, das von den erwähnten Autoren als unmittelbarer Vorläufer der Kortikoide angesehen wird.

Während allgemein die Cholesterinester als Ausgangsstoffe der Kortikoidbiosynthese diskutiert werden, mißt man den Triglyceriden eine biologische Bedeutung vor allem als Reservestoffe des Energiehaushaltes bei. EBERHAGEN und Mitarbeiter (1963) konnten erhebliche Mengen an Tri- und Diglyce-

riden in den Nebennieren nachweisen, und auch RILEY (1963) berichtete über relativ hohe Triglyceridanteile in den Gesamtlipoiden. Die von den vorstehenden Autoren gefundene Fettsäurenzusammensetzung der Triglyceride unterscheidet sich im wesentlichen nicht von den in der Literatur für das menschliche Depotfett angegebenen Werten (Übersicht siehe BÖHLE 1965). Auf eine Erörterung der Bedeutung der Triglyceride für Struktur und Funktion der Nebenniere wird hier verzichtet.

Im Gegensatz zu den Triglyceriden spielen die Phosphatide im Hinblick auf Struktur und Stoffwechsel der Zelle eine außerordentlich große Rolle, so daß auf dieser Basis ihre besondere Bedeutung für die Funktion der Nebenniere im folgenden erörtert werden soll. EBERHAGEN ermittelte für die Phosphatidfraktion einer menschlichen Nebenniere mit normaler histologischer Struktur die nachstehenden Werte: 10 % Kepheline, 45 % Lecithin und Acetalphosphatide, 10 % Lysolecithin und 33 % Sphingomyelin. Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, daß Sphingomyelin bereits 1909 von ROSENHEIM und TEBB nachgewiesen wurde. Sein Vorkommen in den Nebennieren wurde später von BEUMER (1914) und WOODHOUSE (1928) bestätigt. KLENK und FRIEDRICHS (1952) fanden als erste außer Esterphosphatiden auch Acetalphosphatide in den Organen. Diese Tatsache steht auch im Einklang mit histochemisch gemachten Beobachtungen (Übersicht siehe WOLMAN 1964).

Ein besonderes Augenmerk verdienen wie bei den Cholesterinestern die Fettsäuren, die in den Phosphatiden enthalten sind. Die Lecithine und Kepheline sind mit Säuren verestert, die auch in den Neutralfetten vorliegen. Dabei gilt fast allgemein, daß die β -ständige Fettsäure (Öl-, Linol- oder Arachidonsäure) ungesättigt ist, während an der α -Hydroxylgruppe des Glycerinrestes eine gesättigte Säure (Palmitin-, Stearinsäure) gebunden ist. Unter den Fettsäuren der Nebennierenphosphatide dominiert die Arachidonsäure. BROWN (1929)

hatte ihren Gehalt in den Gesamtphosphatidfettsäuren beim Rind anfänglich mit 5,5 %, dann mit 11,2 % der Gesamtfettsäuren des Organs und schließlich mit 22 % der Gesamtphosphatidfettsäuren angegeben (AULT und BROWN 1934). 1936 gelang es KLENK und DITTMER, hochungesättigte C_{22} -Fettsäuren in Glycerinphosphatiden aus Herzmuskel und Milz vom Rind in nennenswerten Konzentrationen nachzuweisen. Die C_{20} -Tetraensäure und daneben auch die C_{20} - und C_{22} -Pentaensäure konnten RIEMENSCHNEIDER und Mitarbeiter 1949 in reiner Form gewinnen. Die Konstitution dieser Säuren wurde durch EBERHAGEN und KLENK (1960) ermittelt, wobei sie außerdem folgende hochungesättigte Fettsäuren aus Rindernebennieren isolierten: $\Delta 5,8,11$ - und $\Delta 8,11,14$ -Eikosatriensäure, $\Delta 5,8,11,14$ -Eikosatetraensäure, $\Delta 5,8,11,14,17$ -Eikosapentaensäure, $\Delta 7,10,13,16$ -Dokosatetraensäure und $\Delta 7,10,13,16,19$ -Dokosapentaensäure. Das Vorkommen der beiden Tetraensäuren und der $\Delta 8,11,14$ -Eikosatriensäure bestätigten LO CHANG und SWEELEY (1962) beim Fund.

Die Phosphatidfettsäuren aus menschlichen Nebennieren zeigten ähnlich wie die Cholesterinfettsäuren bei Organstimulierung erhebliche Schwankungen ihrer Zusammensetzung (EBERHAGEN und Mitarbeiter 1963). Unter den hochungesättigten Fettsäuren variierten vor allem die Werte der C_{20} - und C_{22} -Tetraensäure. Der Schwankungsbereich für die Arachidonsäure (C_{20} -Tetraensäure) lag dabei zwischen 10 und 25 % der Gesamtphosphatidfettsäuren. Ähnliche Werte ermittelte RILEY (1963).

Wie bereits einleitend angedeutet, kommt den Phosphatiden und ihren Fettsäuren eine noch nicht voll überschaubare strukturelle und funktionelle Bedeutung innerhalb der Zellorganisation zu. Ein kurzer Abriß der in diesem Zusammenhang wichtigsten wissenschaftlichen Ergebnisse möge dies veranschaulichen.

Die Zellmembran und alle subzellulären membranösen Partikel sind reich an Lipoiden, besonders an Phosphatiden, die -das

darf mit größter Sicherheit angenommen werden- als essentielle Bestandteile in allen membranösen Zellstrukturen integriert sind (Übersicht siehe ANSELL und HAWTHORNE 1964). Die Phosphatide erfüllen hierbei nicht allein strukturelle Aufgaben, indem sie einfach passiv räumliche Anordnungen innerhalb von Membranen bilden, sondern sie nehmen darüberhinaus aktiv am Stoffwechselgeschehen der Zelle teil. An erster Stelle sind hier die Ergebnisse von GREEN und FLEISCHER (1963) zu nennen, die ihre Untersuchungen an Mitochondrien vornahmen. 1963 stellten sie in diesen Zellorganellen aus Rinderherzmuskelgewebe 25 % (g/g) Lipide fest, wovon auf die Phosphatide 95 % und auf die Neutralfette 5 % entfielen. Hierbei gliederte sich die Zusammensetzung der Phosphatide wie folgt auf: Colaminkephalin 42 %, Lecithin 35 %, Cardiolipin 18 %, sonstige Phosphatide 5 % (in % des Gesamtphosphors).

Nach einer Zusammenstellung von ANSELL und HAWTHORNE (1964) enthielten die Mitochondrien je nach ihrer Herkunft unterschiedliche Mengen an Cardiolipin, Colamin- und Serinkephalin, Inosit- und Acetalphosphatid und Lecithin als Hauptkomponenten. Auch nach den Angaben von GETZ, BARTLEY, LURIE und NOTTON (1968) war bei der Untersuchung verschiedener Organe und ihrer subzellulären Partikel Lecithin das vorherrschende Phosphatid. Dabei enthielten die Mitochondrien vieler Gewebe relativ mehr Colaminkephalin als die anderen subzellulären Organellen. Auffallend war auch die hohe Konzentration an Polyglycerinphosphatiden, die von den Autoren nur in Mitochondrien nachgewiesen wurden. 1963 fanden GREEN und FLEISCHER, daß die Anwesenheit von Lecithin in denjenigen Mitochondrien unbedingt erforderlich ist, in denen die β -Hydroxybuttersäure-Dehydrogenase die Oxydation von β -Hydroxybutyrat katalysiert. Außerdem konnten sie durch ihre Untersuchungen eindeutig zeigen, daß die Phosphatide maßgeblich am elektronenübertragenden System der Mitochondrien beteiligt sind. Den Vorstellungen der Autoren zufolge ist

die Elektronentransportkette aus vier Komplexen aufgebaut, von denen jeder ein Mosaik von Proteinen und Lipoiden darstellt. Für die Aktivität eines Komplexes als Ganzes sind die Lipotide wichtig, nicht aber für Teilaktivitäten einzelner Proteine der Komplexe. Für die Aufrechterhaltung der Aktivität aller vier Komplexe sind in spezifischer Weise saure Phosphatide erforderlich. LYNN und BROWN (1964) vertraten die Ansicht, daß saure Phosphatide auch am Ionen- und Wassertransport in den Mitochondrien beteiligt sein sollen. Noch rein spekulativen Charakter tragen Anschauungen, die die wesentliche Funktion der Phosphatide allgemein damit erklären, daß die Phosphatide die sessilen Enzyme der Zelle, namentlich auch die Atmungsenzyme in den Mitochondrien als sogenannte strukturgebundene Enzyme an die Zellstrukturen fixieren. Neuerdings wird auch über die Erfordernis von Phosphatiden für die Funktionsfähigkeit von nicht strukturgebundenen Enzymen berichtet (JAMES und SOLOMON 1964, ASANO und Mitarbeiter 1965).

Quantitative Untersuchungen der Mitochondrienphosphatide auf ihre Fettsäurezusammensetzung hin haben einen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren von nahezu der Hälfte der Gesamtposphatidfettsäuren ergeben. Dabei ist die Arachidonsäure quantitativ die wichtigste Säure (MACFARLANE und Mitarbeiter 1960). Ihre genaue Rolle in den Mitochondrien ist aber immer noch unklar. HIKASA und Mitarbeiter (1966) vermuteten, daß die Arachidonsäure als Aktivator mitochondrialer Enzymsysteme funktioniert. Spekulative Anschauungen führten bereits zur Annahme, daß die Doppelbindungen der Polyenfettsäuren als Sauerstoffüberträger bestimmter strukturgebundener Enzyme der Zellatmung dienen. Versuche von ITO und JOHNSON (1965) mit Lebermitochondrien fettfrei ernährter Ratten zeigten veränderte Aktivitäten der Cytochromoxydase, der Bernsteinsäure-, Buttersäure- und Glutaminsäure-Dehydrogenase als Resultat des Fettmangels. Ausgehend von der Annahme GREENs und FLEISCHERS, daß sich der oxydative Phosphoryli-

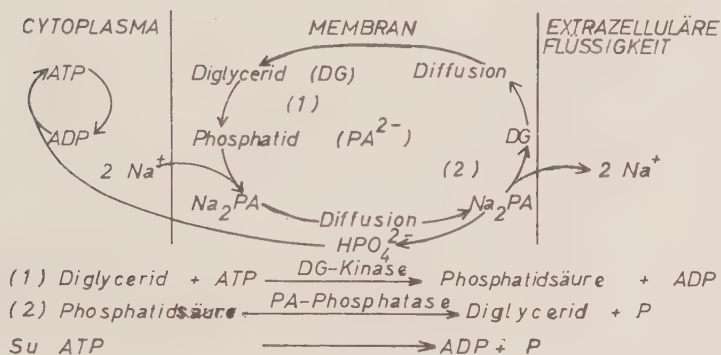
sierungsapparat aus Protein- und Lipoid-Komplexen zusammensetzt, folgerten ITO und JOHNSON, daß die Stabilität einer derartigen Struktur teilweise von der Natur der Phosphatidfettsäuren abhängt und damit letztere auch die Aktivität eines oder mehrere Enzyme, die in diesem Komplex der Atmungskette arbeiten, beeinflussen können (ITO und JOHNSON 1965). Einen anderen Weg zur Beeinflussung von Reaktionen in den Mitochondrien durch den Fettsäureanteil der mitochondrialen Phosphatide sahen die Autoren darin, daß sich in Abhängigkeit von dessen Zusammensetzung die Dielektrizitätskonstante in den Mitochondrien ändert. Mit dieser Auffassung stimmten sie mit GREEN und FLEISCHER (1963) überein, die ihrerseits den hohen Gehalt der Phosphatide an Polyenfettsäuren damit erklärten, daß die mehrfach ungesättigten Fettsäuren zur Aufrechterhaltung der räumlichen Anordnung bzw. zur Einstellung der kritischen Dielektrizitätskonstanten in den enzymatischen Wirkungszentren erforderlich sind. Untersuchungen der Mikrosomenfraktion hatten ebenfalls einen hohen Phosphatidgehalt ergeben, wobei sich die Zusammensetzung der Phosphatide und ihrer Fettsäuren nicht wesentlich von der in den Mitochondrien gefundenen unterscheidet (MARINETTI und Mitarbeiter 1958, MACFARLANE und Mitarbeiter 1960, GETZ und Mitarbeiter 1962). Nur wenige Untersuchungen liegen bislang über die Funktion der Phosphatide und ihrer Fettsäuren in den Mikrosomen vor. DEUEL und MCILWAIN (1961) konnten zeigen, daß die Reaktionsrate der mikrosomalen ATPase von 600 mol/g Gewebe/h dem beobachteten Ionentransport im Hirngewebe entspricht. In diesem Zusammenhang ist das Lecithin besonders zu erwähnen, das nach einem Bericht von MARTONOSI (1963) an der ATPase-Aktivität und am Calcium-Ionentransport im fragmentierten Sarkoplasmaretikulum beteiligt ist. Eine NADPH-abhängige Bildung von Lipoperoxiden konnten ERNSTER und Mitarbeiter in Rattenlebermikrosomen nachweisen. Während dieser Lipoperoxidbildung, die nach HOCHSTEIN und ERNSTER (1963) durch Zusatz von ADP

ausgelöst und durch Eisen-Ionen katalysiert wird (HOCHSTEIN und Mitarbeiter 1964), verringerte sich der Colaminkephalin-gehalt und der Quotient Lipoid-Doppelbindung/Lipoid-Phosphor. Außerdem traten polare, chromatographisch langsam wandernde Verbindungen sowie Aldehyde auf. Dabei ergab die Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung eine ausgeprägte Verminderung der Arachidonsäure in der Kephalin- und Lecithinfraktion auf weniger als die Hälfte der Vergleichswerte (MAY und Mitarbeiter 1965). 1968 hatten MAY und MCCAY in einer Studie gezeigt, daß der Prozeß der NADPH-abhängigen Verwendung von Phosphatidpolyenfettsäuren der mikrosomalen Membranen Enzymnatur besitzt. Dabei wurde während der Reaktion NADPH oxidiert und Sauerstoff verbraucht.

Am Zellkernaufbau sind die Phosphatide nur als Bestandteile der Kernmembran beteiligt. Das Innere des Zellkerns ist nach den Untersuchungen von GURR und Mitarbeitern (1963) frei von Phosphatiden. GETZ, BARTLEY, LURIE und NOTTON (1968) wollen allerdings in gereinigten Zellkernen bedeutende Mengen an Polyglycerinphosphatiden nachgewiesen haben.

Über die Bedeutung der Phosphatide für die Struktur und Funktionsfähigkeit der Zellmembran liegen ebenfalls nur wenige Einzelheiten vor, da die Gewinnung und Reindarstellung dieses Zellbestandteiles außerordentlich schwierig ist. Interessant sind in diesem Zusammenhang die Vorstellungen von L.HOKIN und M.HOKIN über die Beteiligung der Phosphatide am aktiven Transport von Ionen durch die Zellmembran. 1959 postulierten sie als "carrier" für den Transport von Natrium-Ionen durch die Zellmembran hindurch die Phosphatidsäure, synthetisiert aus ATP und Diglycerid an der inneren Oberfläche der Membran. Das Natriumphosphatidat diffundiert durch die Membran und wird an der äußeren Oberfläche der Membran unter Bildung von Natrium- und Phosphatid-Ionen hydrolysiert. Um den Zyklus zu vervollständigen, muß das Phosphatid-Ion durch die Membran zurücktransportiert werden.

Wie das geschieht, ist allerdings noch unklar. Als Bilanz dieses Systems wird für den Transport von zwei Natrium-Ionen ein Molekül ATP hydrolysiert. Das System funktioniert also effektiv wie eine ATPase. Die beiden Enzyme, die im LOKIN-Mechanismus wirksam sind, wurden in der Albatross-Jalzdüse, in Erythrozytenmembranen und in Gehirnmikrosomen nachgewiesen. In der Erythrozytenmembran wird die Diglyceridkinase durch Kalium-Ionen in Anwesenheit von Natrium-Ionen stimuliert. Die Phosphatidsäure-Phosphatase dieser Zellfraktion besteht aus zwei Arten, von denen die eine Mg^{2+} -abhängig ist. Nachstehendes Schema verdeutlicht den LOKIN-Mechanismus.



Schema 1 Vereinfachte Darstellung des LOKIN-Mechanismus
Anschließend sei noch auf die Beobachtungen von KARHOVSKI und WALLACE (1961) hingewiesen, die zeigen konnten, daß der Einbau von ^{32}P in Phosphatidfettsäuren von polymorphkernigen Leukozyten während der Phagozytose stimuliert wird. Die spezifischen Radioaktivitäten von Phosphoinositiden und von Serinkephalin nahmen ebenfalls zu, nicht dagegen die von Colaminkephalin, Sphingomyelin und Lecithin. Die Autoren nehmen analog zu LOKIN und ROKIN an, daß die Pha-

gozytose von einem plötzlichen Anstieg der Glykolyse begleitet ist, die ihrerseits den ^{32}P -Einbau in Phosphatidfettsäuren und Phosphoinositide via Glycerophosphat stimulieren könnte.

Was die Acylreste der Phosphatide betrifft, so muß auffallen, daß in den Phosphatiden der Organe mit ausgesprochener Membranfunktion, wie der Lunge (GRAY und MACFARLANE 1961) und der Plazenta (SEDERMAGEN 1963), nur geringe Mengen mehrfach ungesättigter Fettsäuren gefunden wurden.

Die biologische Funktion der Phosphatide läßt sich wie folgt zusammenfassen:

- 1) Die Phosphatide sind gemeinsam mit den Proteinen für die Bildung der membranösen Zellstrukturen verantwortlich.
- 2) Sie sind aktiv in das mitochondriale elektronenübertragende System eingeschaltet und auch in den Mikrosomen am Elektronentransport beteiligt.
- 3) Die Phosphatidsäure wird als Trägermolekül ("carrier") für den Transport bestimmter Ionen durch das Plasmalemma diskutiert (HOKIN und HOKIN 1959) und scheint auch bei der Phagozytose Bedeutung zu haben (KARNOVSKY und WALLACH 1961).

PROBLEMSTELLUNG UND ZIELBESTIMMUNG

Bei den Untersuchungen von EBERHAGEN (1966) wurde in Rattennebennieren ein auffallend hoher Gehalt an Cholesterinestern festgestellt, der abhängig von der Organaktivität großen Schwankungen unterworfen war. Im Gegensatz dazu nahm der Phosphatidgehalt der Nebenniere nach stressbedingter Stimulierung der Organaktivität nur geringfügig zu und fiel am 2. bis 4. Tag nach dem Reiz in der Regel wieder auf die Kontrolltierwerte ab. Allerdings ergaben sich bei den Phosphatidfettsäuren erhebliche Schwankungen in den Werten für den Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren. Während man das Verhalten der Cholesterinester dahingehend zu deuten versucht, daß sie im Nebennierengewebe als Reserve gespeichert werden, um bei erhöhtem Kortikoidbedarf des Organismus unabhängig von der Organeigenproduktion ausreichende Cholesterinmengen zur Umwandlung in die Nebennierenrindenhormone zu gewährleisten, versucht man die Schwankungen vor allem der hochungesättigten Phosphatidfettsäuren mit ihrer zum Teil bekannten Funktion im Strukturverband der Mitochondrien und des endoplasmatischen Retikulums in der Weise in Zusammenhang zu bringen, daß man eine Beziehung zwischen der Energiegewinnung und den organspezifischen Leistungen (Kortikoidsynthese) auf der einen Seite und dem Kephalin-, Lecithin- und deren Arachidonsäure-

gehalt auf der anderen Seite annimmt.

Unter Berücksichtigung dieser Aspekte wurden die vorliegenden Untersuchungen mit der Fragestellung durchgeführt, ob sich eine Korrelation zwischen dem Gehalt der Nebennieren an Phosphatiden - aufgegliedert in die Colamincephaline, Lecithine und Sphingomyeline.-, sowie ihrer Fettsäurezusammensetzung und der Organaktivität aufzeigen läßt. Dabei wurden folgende Bedingungen gewählt:

Als Reiz zur Stimulierung der Organaktivität wurde in Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (EBERHAGEN 1966) Ratten eine subletale intraperitoneale Injektion von Formalin verabreicht und anschließend das Verhalten der einzelnen Phosphatide und ihrer Fettsäurezusammensetzung in den Nebennieren bestimmt. In einer zweiten Versuchsreihe erhielten die Tiere nach der Formalinvergiftung zur Blockierung des Hypophysen-Nebennieren-Systems eine fortlaufende Cortisonzufuhr.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Vorbereitung der Tiere

Für die Versuche wurden neun bis zehn Wochen alte weibliche Ratten eines klinikeigenen Inzuchtstammes mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 150 - 300 g verwendet. Die Versuchstiere waren unter gleichen Bedingungen aufgewachsen und wurden mit Altromin ad libitum gefüttert.

Die in der Kontrollgruppe zusammengefaßten Tiere erhielten in Äthernarkose 0,5 ml physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal gespritzt und wurden zwei Stunden post injectionem geschlachtet. Die eigentlichen Versuchstiere wurden in zwei Gruppen unterteilt. Die Ratten der ersten Gruppe erhielten jeweils 0,5 ml 2 %ige Formalinlösung intraperitoneal verabreicht und jeweils 5 bzw. 6 Tiere wurden 0,5, 2, 6, 12, 24, 48 und 96 Stunden nach der Injektion durch Eröffnen des Herzmuskels in Äthernarkose getötet. Den Ratten der zweiten Versuchsreihe wurde in gleicher Technik ebenfalls 0,5 ml 2 %ige Formalinlösung und zusätzlich in Abständen von abwechselnd 6 und 12 Stunden jeweils 10 mg Solu-Decortin der Fa. E. MERCK, Darmstadt, injiziert. Kontroll- und sämtliche Versuchstiere erhielten außerdem 2 Stunden vor der Tötung je 20 μ Ci ^{14}C -Acetat intraperitoneal verabreicht.

Die Tiere der zweiten Versuchsgruppe wurden in den gleichen Zeitabständen und in der gleichen Technik wie die der ersten Gruppe getötet.

Gewinnung und Reinigung der Gesamtlipoide

Unmittelbar nach dem Tode der Versuchstiere wurden die Nebennieren entnommen. Das den Organen anhaftende Fettgewebe wurde sorgfältig abpräpariert. Die Bindegewebskapsel konnte wegen der Kleinheit der Organe nicht mitentfernt werden. Die Nebennieren der zur gleichen Zeitgruppe gehörenden Tiere wurden vereinigt und zur Bestimmung des Gewebefrischgewichtes unmittelbar anschließend auf einer Halbmikrowaage gewogen. Nach Zusatz von 1,0 ml physiologischer Kochsalzlösung wurden sie mit einem Potter-Elvehjem-Glashomogenisator zerkleinert. Das Homogenat wurde in die 20-fache Menge Chloroform-Methanol (2:1 v/v) eingetragen und nach 24-stündigem Stehen bei Zimmertemperatur abfiltriert. Der Filtrationsrückstand wurde bis zur Gewichtskonstanz bei etwa 120°C im Trockenschrank getrocknet. Im folgenden wird der Filtrationsrückstand als extrahierter Geweberückstand bezeichnet.

Das Filtrat wurde mit dem 0,2-fachen Volumen Wasser in einem Meßzylinder geschüttelt und die nach Trennung der Phasen erhaltene obere Schicht sorgfältig abgesaugt. Sie wurde bei etwa 80°C zur Trockne gebracht. Der Rückstand wird im folgenden als wasserlösliche Extraktstoffe bezeichnet. Die untere Phase mit den auf diese Weise nach FOLCH und Mitarbeitern (1957) gereinigten Lipoiden wurde im Rotationsverdampfer bei Wasserbadtemperaturen nicht über 40°C eingedampft und die Inhaltsstoffe im Vakuumexsikkator getrocknet. Nach der Wägung wurden die Gesamtlipoide in 100 ml Chloroform gelöst und an aliquoten Teilen die Bestimmung des Gesamtcholesterins nach der Methode von ZAK und Mitarbeitern (1964) sowie die Bestimmung des Lipoid-

phosphors nach der Methode von BARTLETT (1959) durchgeführt.

Auftrennung der Gesamtlipoide

Die Zerlegung des Lipoidgemisches in Cholesterinester, Triglyceride, freies Cholesterin, Colaminkephaline, Lecithine und Sphingomyeline wurde auf kleinen Kieselgelsäulen vorgenommen. Die Säulen wurden aus Glasrohren von 1 cm Durchmesser mit einer Länge von 20 - 25 cm hergestellt und unten zur Spitze ausgezogen. Als Füllmaterial dienten 5,5 g Kieselgel MERCK, Korngröße 0,05 - 0,20 mm, das als petrolätherische Suspension in die Säule gegeben wurde. Nach der Sedimentation des Kieselgels betrug die Füllhöhe 12 - 13 cm. Eine genau passende und entfettete Filterscheibe wurde auf das Kieselgel gelegt. Dann wurde die Füllung mit einem Glasstab bis zu einer Höhe von 10 - 11 cm zusammengedrückt. Der überstehende Petroläther wurde abgeschüttet und dann sofort das in 1 ml Petroläther gelöste Lipoidgemisch in die Säule eingebracht. Nachdem die Lösung vollständig in die Füllung eindrainiert war und mit Petroläther nachgespült worden war, begann die Elution mit 10 ml Petroläther, 50 ml 5 % Äther in Petroläther, 50 ml 5 % Methanol in Chloroform, 50 ml Methanol-Chloroform-Wasser (50:50:2,5 v:v:v), 50 ml Methanol-Chloroform-Wasser (50:50:5 v:v:v) und 50 ml Methanol-Wasser (80:20 v:v). Es wurden jeweils vier Säulen laufen gelassen. Das Eluat wurde durch einen Fraktionssammler als 2 ml-Fraktion aufgefangen. Um eine gleichmäßige Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Phase in allen vier Säulen zu gewährleisten, wurden die Elutionen von einer Motorspritze durch die Säulen gepreßt. Jede Säulenfraktion wurde dünnschichtchromatographisch nach ZÖLLNER und WOLFRAM (1962) untersucht. In der Äther-Petroläther-Fraktion waren die Cholesterinester, in der Chloroform-Fraktion die Tri-, Di- und Monoglyceride sowie

das freie Cholesterin enthalten. Mit dem Chloroform-Methanol-Wasser-Gemisch wurden die Colaminkephalin- und Lecithinfraktion und mit dem Methanol-Wasser-Gemisch die Sphingomyelinfraktion von der Säule gewaschen. Die so eluierten Mischfraktionen wurden auf 0,5 mm dicken, aktivierten Kieselgel G-Dünnschichtplatten in den Fließmittelsystemen Petroläther-Äthylmethylketon-Eisessig (25:4:9 v:v:v) bzw. Chloroform-Methanol-Wasser (65:25:4 v:v:v) in das freie Cholesterin und die Neutralfette bzw. in die Colaminkephalin- und Lecithinfraktion zerlegt. Das Glyceridgemisch bestand zum überwiegenden Teil aus Triglyceriden.

Gewinnung der Fettsäuremethylester

In Anbetracht des sehr geringen zur Verfügung stehenden Materials wurde für die weitere Aufarbeitung der Lipoidfraktionen eine Mikroarbeitsmethode verwendet. Die apparative Ausrüstung ist bei EBERHAGEN (1966) angegeben.

Zur Umesterung wurden die verschiedenen Säulenfraktionen in einem Zentrifugenglas mit rundem Boden eingedampft und dann in 2 ml Methylacetat und 2 ml 5 %iger wasserfreier, methanolischer Salzsäure (Herstellung siehe EBERHAGEN 1965) gelöst. Die Lösung wurde eine Stunde unter Rückfluß bei 75°C gekocht. Der Zusatz von Methylacetat sollte nicht nur die Lösungsverhältnisse für sonst schlecht lösliche Lipide verbessern (EBERHAGEN 1963), sondern auch für ein gleichmäßiges Abspülen der Röhrchenwand durch das kondensierende Lösungsmittel sorgen. Als Siedesteinchen wurden etwa 1 mm große Tonstückchen verwendet. Nach dem Erkalten der Lösung erfolgte die Extraktion der lipoidlöslichen Bestandteile. Dazu wurden 1,0 ml Wasser und 1,5 ml Äther-Petroläther-Gemisch (1:1 v:v) zugesetzt und ein fettfreies Rührstäbchen mit einer Pinzette in das Röhrchen gebracht. Mit einem Magnetrührer wurde dann der Inhalt so rasch durchgemischt, daß keine Phasen mehr erkennbar waren. Zum Schutz

vor Oxidation war zuvor auf das Zentrifugenglas eine Gas-einleitungshaube aufgesetzt worden, durch die ein schwacher Stickstoffstrom geblasen wurde. Seine Geschwindigkeit wurde mit einem einfachen Blasen-zähler kontrolliert, um ein Abblasen von Lösungsmittel zu verhindern. Nachdem das Phasensystem drei Minuten lang homogenisiert worden war, trennten sich die Phasen nach Abstellen des Rührers. Die petrolätherische obere Phase, in der die Lipoidbestandteile gelöst waren, wurde nun mit der Lösungsmittelpipette erneut abgesaugt. Nach weiterer Zugabe von 1,5 ml Äther-Petroläther wurden die Phasen wieder in der beschriebenen Weise mit dem Magnetrührer drei Minuten lang verteilt und die Extraktion wiederholt. Insgesamt genügten drei Extraktionsvorgänge zur vollständigen Erfassung der Lipoidsubstanzen.

Die Äther-petrolätherische Phase wurde in einem normalen Zentrifugenglas gesammelt und durch Zusatz von 1 ml gesättigter Natriumhydrogenkarbonatlösung unter erneuter Anwendung der Magnetrührertechnik neutral gewaschen. Die obere Phase wurde dann mit der Lösungsmittelpipette quantitativ in ein Zentrifugenröhrchen mit spitzem Boden überführt und das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer verflüchtigt. Anschließend wurde dann die Umesterung auf ihre Vollständigkeit dünnschichtchromatographisch geprüft.

Der petrolätherische Extrakt aus der Methanolysereaktion enthielt neben den Fettsäuremethylestern noch unverseifbares Material wie Cholesterin, Sphingosin etc.. Diese Substanzen mußten entfernt werden, da sie bei der gaschromatographischen Analyse stören würden. Die Abtrennung gelang auf chromatographischem Wege mit den gleichen Säulen wie sie bei der Auftrennung der Gesamtlipide verwendet wurden. Die Spaltprodukte wurden in 1 ml Petroläther gelöst in die Säule gebracht und mit 50 ml einer 5 %igen Lösung von Äther in Petroläther die Fettsäuremethylester, mit weiteren 50 ml Chloroform die anderen Spaltprodukte eluiert. Die Reinheit der Fettsäuremethylester wurde wiederum dünnschichtchroma-

tographisch kontrolliert.

Gaschromatographische Untersuchung der Fettsäuremethylester

Zur Ermittlung der Zusammensetzung der Fettsäuregemische wurden die gereinigten Methylesterfraktionen in einem Zentrifugenglas mit spitzem Boden eingedampft. Um die gesamte Substanz auf den Gefäßboden zu bringen und damit zum Schutz vor Oxidation die Oberfläche derselben zu verkleinern, wurde die ganze Röhrchenwand mit etwa drei Tropfen Chloroform benetzt und die verschlossenen Gläser kurze Zeit zentrifugiert. Aliquote Teile dieser Lösung wurden mit Hilfe einer Mikroinjektionsspritze (Fa. HAMILTON, Whittier/USA) in den Gaschromatographen eingeführt.

Für die Untersuchungen stand ein Gerät der Fa. BODENSEEWERK PERKIN-ELMER und Co., Überlingen/Bodensee, zur Verfügung, das mit einem FID (Flammenionisationsdetektor) ausgerüstet war. Dabei betrug die Temperatur der Trennsäule 165°C und die des Probenverdampfers 280°C , die Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases (gereinigter Stickstoff) 25 ml/Min.. Die Trennsäulen hatten eine Standardlänge von 2 m und einen Innendurchmesser von 2,7 mm, einen Außendurchmesser von 4,3 mm. Als Säulenfüllung diente Gaschrom Z 60 - 80 mesh (Fa. BODENSEEWERK PERKIN-ELMER und Co., Überlingen), das in 10 %iger Belegung mit Bernsteinsäureäthylenglykolpolyester als stationäre Phase imprägniert war. Der Polyester war nach Angaben von CRAIG und MURRY (1959) synthetisiert worden.

Anschließend wurden die Fettsäuremethylester hydriert und dann noch einmal gaschromatographisch untersucht. Dies wurde als notwendig angesehen, um bei der quantitativen Auswertung der Gaschromatogramme die Fehlermöglichkeiten zu verringern (siehe EBERHAGEN 1966). Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgte nach dem Dreieckverfahren.

Die Hydrierung der C=C-Doppelbindungen in den Fettsäuren wurde, wie von EBERHAGEN (1965) angegeben, durch 2 - 4-stündiges Schütteln der methanolischen Fettsäurelösung in Wasserstoffatmosphäre mit Palladiumkohle als Katalysator durchgeführt.

Bestimmung der spezifischen Radioaktivität

Aliquote Teile der in jeweils 25 ml Chloroform gelösten Gesamtlipoide, Cholesterinester, Triglyceride, Cholesterinfraktion, Colaminkephalin-, Lecithin- und Sphingomyelinfraktion und der jeweils abgetrennten Fettsäuren wurden in den zur Zählung vorgesehenen Gläschen eingedampft, und der Rückstand nach Einleiten von Stickstoff in 10 ml PPO-POPOP Szintillatorlösung gelöst. Letztere bestand aus 5 g PPO und 0,3 g Dimethyl-POPOP in 1 l Toluol. Die Zählung erfolgte in einem "Tricarb"-Flüssigkeitsszintillationsspektrometer der Fa. PACKARD Instruments und Co., La Grange/USA, mit folgender Einstellung:

Fenster A 50, Fenster B 1000, Verstärkung 7,6; gezählt wurden die Impulse über 10 Minuten.

Der Substanzgehalt wurde bei den Gesamtlipoiden durch Auswiegen ermittelt bzw. errechnet aus der Bestimmung des Lipoidphosphors nach BARTLETT (1959), des Cholesterins nach ZAK und Mitarbeitern (1954) und der Acylester nach FRIED und HÖFLMAYR (1963).

Reagenzien

Alle verwendeten Lösungsmittel besaßen p.a.-Qualität. Petroläther, Kp. 30 - 50°C und Kp. 50 - 70°C wurden von der Fa. RIEDEL DE HAEN, Seelze b. Hannover, Palladium-Hydrierkatalysator von der Fa. FLUKA, Buchs/Schweiz, PPO sowie Dimethyl-POPOP von der Fa. NEW ENGLAND NUCLEAR CORP., Boston/USA bezogen. Alle anderen Chemikalien waren Produkte der Fa. MERCK, Darmstadt.

ERGEBNISSE

Die Untersuchungen wurden in zwei Versuchsreihen durchgeführt. Jeweils 5 oder 6 Ratten der ersten Versuchsreihe wurden 0,5, 2, 6, 12, 24, 48 und 96 Stunden nach intraperitonealer Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung getötet. Ebenso erhielten jeweils 5 oder 6 Ratten der zweiten Versuchsreihe 0,5 ml 2 %ige Formalinlösung und zusätzlich 10 mg Solu-Decortin in gleicher Technik verabreicht und wurden in den angegebenen Zeitabständen durch Eröffnen des Herzmuskels in Äthernarkose getötet. Bei den 12-, 24-, 48- und 96-Stunden-Tieren wurde in Abständen von abwechselnd 6 und 12 Stunden die Injektion von 10 mg Solu-Decortin wiederholt, um den Cortisonspiegel bis zum Tode der Tiere aufrecht zu erhalten. Die Kontrollgruppe, die 6 Tiere umfaßte, bekam 0,5 ml physiologische Kochsalzlösung intraperitoneal appliziert und wurde 2 Stunden später getötet. Außerdem erhielten Kontroll- und sämtliche Versuchstiere 2 Stunden vor der Tötung je 20 μCi ^{14}C -Acetat intraperitoneal. Die intraperitoneale Applikationsweise wurde wegen der raschen Resorption des zugeführten Stoffes im Peritonealraum gewählt, die bei wässrigen Lösungen fast einer intravenösen Injektion entspricht. Allen getöteten Tieren wurden Blutserum und Nebennieren entnommen, die von jeder Zeitgruppe wegen der minimalen Substanzmengen gemeinsam

aufgearbeitet werden mußten.

Untersuchungen nach Formalin-Vergiftung ohne Cortisongabe

Bei der Eröffnung der Leibeshöhle fand sich vor allem bei den 48-Stunden-Tieren eine deutliche, bei den 96-Stunden-Tieren eine mäßig starke Ansammlung seröser Flüssigkeit im Bauchraum. Im vorhergehenden Zeitraum zeigten sich eine leichte bis mäßige Injektion der Bauchgefäße und zunehmend seröses Exsudat.

In Tab. 1 sind die Ergebnisse der Organuntersuchungen zusammengestellt. Danach ergab sich für das Organfrischgewicht im wesentlichen folgendes Bild (siehe auch Abb. 2): nach einem kontinuierlichen Anstieg auf den Maximalwert von 0,028 % 6 Stunden post injectionem blieb es, von unbedeutenden Schwankungen abgesehen, nahezu konstant und stellte sich 96 Stunden nach der Injektion mit 0,025 % genau wieder auf den 0,5-Stunden-Wert ein. Dabei blieb es während der ganzen Zeit über dem Kontrolltierwert von 0,023 % (alle Prozentangaben beziehen sich auf das Körpergewicht). Der Gesamtlipoidgehalt der Nebenniere änderte sich ebenfalls nur wenig. Er schwankte zwischen 32 und 48 % des Organtrockengewichtes, hatte sein Maximum 48 Stunden nach der Injektion und fiel während des gesamten Zeitablaufes nie unter den Kontrollwert ab (siehe Abb. 1). Die Reaktion des Lipidstoffwechsels auf die Formalininjektion hin kommt am besten im Verhalten des Quotienten Gesamtlipoide/extrahierter Geweberückstand zum Ausdruck. Bereits eine halbe Stunde nach der Injektion fiel der Quotient auf den Minimalwert von 0,58 ab, stieg beim 2-Stunden-Wert auf 0,77 an, um 6 Stunden post injectionem erneut abzufallen. Erst nach 48 Stunden erreichte er den Maximalwert von 1,16 und fiel nach 96 Stunden etwa auf den 2-Stunden-Wert ab (siehe Abb. 2).

Betrachtet man das Verhalten des Cholesterinestergehaltes,

Zeit nach der Injektion		(Stdn.)		Kontroll-		0,5		2		6		12		24		48		96	
Zahl der Tiere		Gruppe		6		5		6		5		6		5		6		6	
Durchschnittliches Körpergewicht		(g)		190		221		222		227		225		232		249		225	
Organfrischgewicht		(mg)		267		274		356		316		372		319		362		341	
Organrockengewicht		(mg)		94,4		94,3		110,6		90,9		114,3		101,4		115,8		112,8	
Extrahierter Geweberückstand		(mg)		45,5		52,9		53,2		48,3		60,1		43,6		48,6		55,6	
Wasserlösliche Extraktstoffe		(mg)		10,1		10,9		16,6		11,3		11,9		10,8		10,1		12,4	
Gesamtlipide		(mg)		28,8		30,5		40,8		31,3		42,3		47,0		56,3		44,8	
Phosphorgehalt		(%)		1,59		1,59		1,62		1,73		1,65		1,41		1,13		1,33	
Cholesterinestergehalt		(%)		28,4		22,8		19,1		18,0		14,7		27,8		33,0		37,4	
Cholesteringehalt der Cholesterinester		(%)		17,9		12,8		11,6		9,2		8,6		16,3		19,4		21,9	
Gehalt an freiem Cholesterin		(%)		2,94		4,31		2,46		3,6		0,98		1,34		1,88		1,02	

++ Als wasserlösliche Extraktstoffe ist der Verdampfungsrückstand der oberen Kamme bei der Verteilung nach FOLCH bezeichnet.

+++ Als Gesamtlipide ist der Verdampfungsrückstand des unteren Innens bei der Verteilung nach FOLCH bezeichnet.

Tab. 1 Die Zusammensetzung der Hebernieren nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung

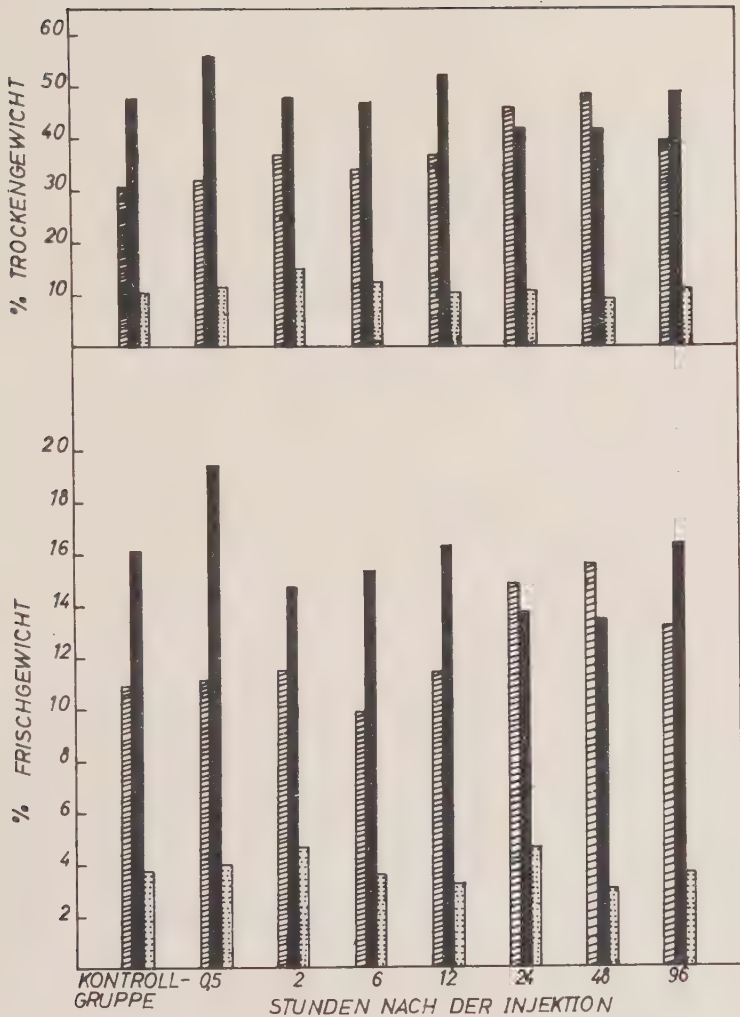


Abb. 1 Der Gehalt der Nebennieren an Gesamtlipoiden (schraffierte Säulen), extrahiertem Geweberückstand (schwarze Säulen) und wasserlöslichen Extraktstoffen (punktierte Säulen) nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung bezogen auf das Trocken- und das Frischgewicht

so zeigt sich ein Maximum 12 Stunden nach der Injektion. Weitere 12 Stunden später steigt er über den Ausgangswert hinaus und erreicht 48 Stunden post injectionem ein Maximum, das fast doppelt so hoch ist wie der Kontrollwert (Bezug auf das Organtrockengewicht, siehe Abb. 3). Damit entsprach sein Verhalten wie auch das des Quotienten Gesamt-lipoide/extrahierter Geweberückstand nur bedingt dem Krankheitsverlauf der Tiere.

Die Phosphatide waren gleichzeitig mit der Verminderung der Cholesterinester als Ausdruck der erhöhten Organaktivität stark angestiegen (bezogen auf das Organtrockengewicht), wobei ihr Maximalgehalt zeitlich mit dem der Cholesterinester zusammenfiel (siehe Abb. 3). Nach vier Tagen war der Phosphatidgehalt wieder auf die Ausgangswerte abgesunken, blieb aber während der ganzen Zeit gegenüber dem Kontrollwert deutlich vermehrt. Dabei zeigte

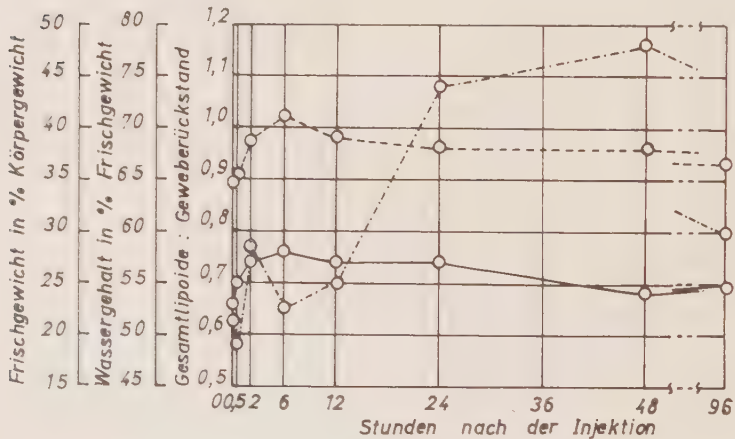


Abb. 2 Das Frischgewicht der Meerschweinchen bezogen auf das Körpergewicht $\circ$ — $\circ$, der Wassergehalt der Organe bezogen auf das Frischgewicht $\circ$ — $\circ$, der Quotient Gesamtlipoide/extrahierter Geweberückstand $\circ$ — $\circ$

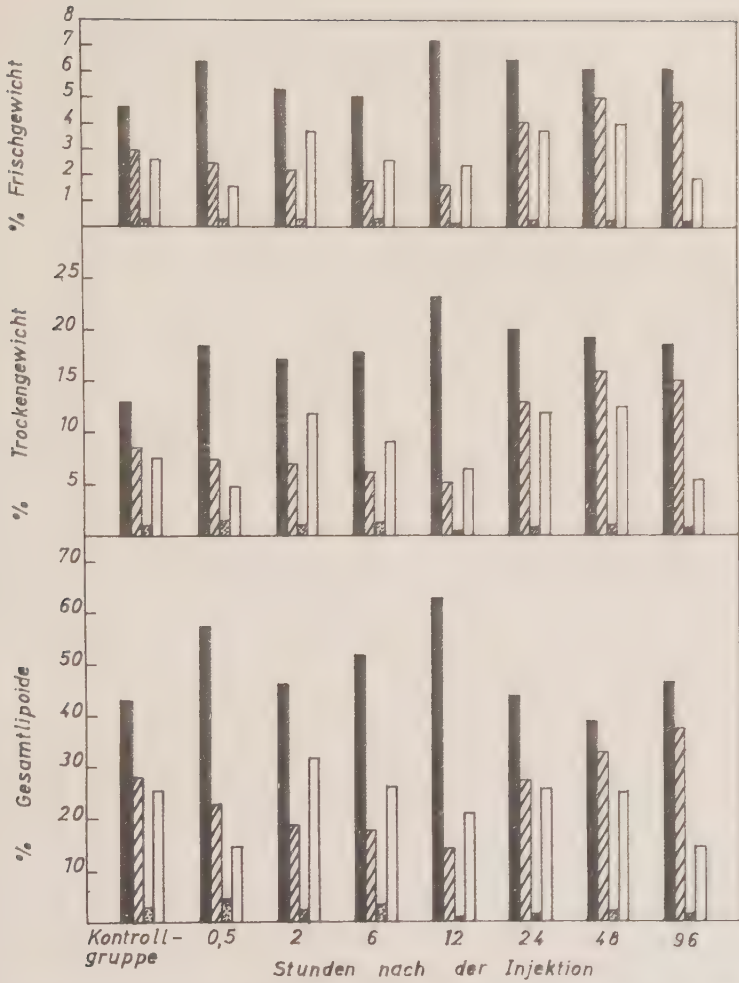


Abb. 3. Der Prozentsatz von Gesamtlipiden, Cholesterinestern (gesamt), freiem Cholesterin (prokristallin), und Cholesterin (amorph) im Gewebe.

er einen zweiphasigen Verlauf mit dem ersten Gipfel 0,5 Stunden post injectionem und einem zweiten maximalen Gipfel 24 Stunden darnach. Während sich der Cholesteringehalt praktisch kaum änderte, verhielt sich die Konzentration der Triglyceride (bezogen auf das Organtrockengewicht) während des gesamten Zeitablaufes (mit Ausnahme des 96-Stunden-Wertes) der der Phosphatide gegenüber reziprok. Das Verhalten der Gesamtlipide war somit nicht nur vom Cholesterinester- und Triglyceridgehalt, sondern vor allem durch die starke Vermehrung der Phosphatide bedingt und ließ vermuten, daß 24 Stunden nach der Injektion die Organe mit den verloren gegangenen Lipoiden wieder aufgefüllt wurden und bei gleichzeitig abnehmendem Phosphatidgehalt die Organzusammensetzung wieder normalisiert wurde. Der Phosphatidgehalt wurde hier wie im folgenden durch Multiplikation des Lipoidphosphorgehaltes mit dem Faktor 25 ermittelt. Dieser Faktor ergibt sich dadurch, daß man bei reinen Phosphatiden einen durchschnittlichen Phosphorgehalt von 4 % annimmt. Die Bestimmung des Cholesteringehaltes erfolgte durch Umrechnung des Cholesteringehaltes mit dem Faktor 1,7 bei Annahme eines mittleren Molekular-

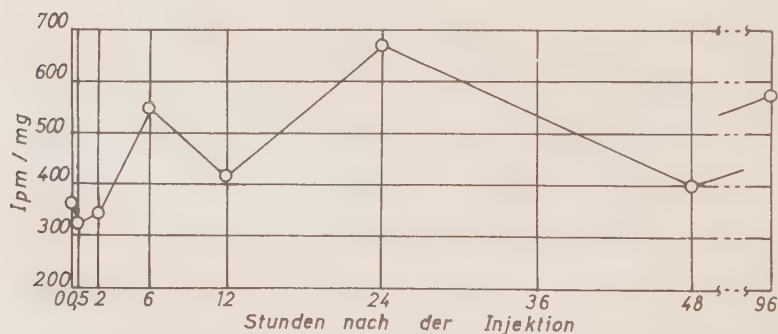


Abb. 4 Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Nebennieren- und Gesamtlipide

gewichtes der an das Cholesterin gebundenen Fettsäuren von 290 (EBERHAGEN und ZÖLLNER 1965). Die Differenz aus dem Gesamtlipoidgehalt und der Summe der bereits bestimmten Lipoidgrößen wurde dem Triglyceridgehalt gleichgesetzt.

Bei den Gesamtlipoiden ergab sich mit 549 Ipm/mg 6 Stunden nach der Injektion ein erster Gipfel der ^{14}C -Acetat-Einbaurate (siehe Abb. 4), ein zweiter Anstieg erfolgte mit 672 Ipm/mg 24 Stunden nach der Formalinvergiftung. Die niedrigste Syntheseaktivität fand sich 0,5 Stunden nach der Injektion, 48 Stunden danach sank ihr Wert auf die Höhe des Kontrolltierwertes ab. In den folgenden zwei Tagen stieg die Syntheserate dann wieder auf 576 Ipm/mg an.

Als nächster Schritt erfolgte die Untersuchung der Colaminkephaline, Lecithine und Sphingomyeline. Die entsprechenden Ergebnisse finden sich in Tabelle 2.

Betrachtet man Abb. 5, so ist ein zweiphasiges Verhalten dieser Phosphatidfraktionen während des ersten Tages erkennbar. Der Gehalt an Colaminkephalinen (in Bezug auf das Organtrockengewicht) stieg innerhalb der ersten 2 Stunden nach der Injektion auf 8,65 % an, sank 6 Stunden danach nur geringfügig ab, um beim 12-Stunden-Wert den Höchststand von 10,5 % zu erreichen. In den folgenden 36 Stunden fiel die Colaminkephalinkonzentration fast auf den Kontrolltierwert ab, nahm am 4. Tag aber deutlich über das Niveau der Ausgangslage hinaus wieder zu. Was das zweiphasige Verhalten betrifft, so stellte sich dieses bei der Lecithinfraktion im Vergleich zur Colaminkephalinfraktion etwas unterschiedlich dar. Der Lecithingehalt (bezogen auf das Organtrockengewicht) erreichte bereits 0,5 Stunden nach der Formalinvergiftung mit 9,77 % seinen ersten hohen Wert, nahm jedoch 6 Stunden später auf 7,9 % ab. In den anschließenden Stunden stieg er zunächst beim 6-Stunden-Wert auf die maximale Höhe von 11,3 % an und hatte sich

Zeit nach der Injektion (Std.)		kontroll-	Gruppe						
			0,5	2	6	12	24	48	96
<u>Colaminkephalin</u>		(mg)	3,50	3,42	5,95	5,80	5,02	2,10	2,42
% Gesamtlipide			20,86	23,43	23,43	24,20	28,62	16,14	14,40
% Gesamttrockengewicht			6,36	7,56	6,65	8,33	10,50	7,50	6,96
% Frischgewicht			2,26	2,61	2,70	2,39	3,27	2,39	2,24
Ipm/mg			$1,4 \cdot 10^2$	$1,13 \cdot 10^2$	$2,86 \cdot 10^2$	$1,23 \cdot 10^2$	$1,08 \cdot 10^2$	$8,08 \cdot 10^2$	$2,48 \cdot 10^1$
<u>Colaminkephalinfettsäuren</u>		(mg)	6,68	3,05	3,05	5,70	3,00	2,50	1,45
Ipm/mg			$4,4 \cdot 10^1$	$5,74 \cdot 10^1$	$1,25 \cdot 10^2$	$8,3 \cdot 10^1$	$3,3 \cdot 10^1$	$1,52 \cdot 10^2$	$2,04 \cdot 10^2$
<u>Leцитин</u>		(mg)	3,10	4,42	5,45	5,50	5,40	2,77	3,22
% Gesamtlipide			18,50	30,34	21,43	23,00	30,84	21,30	19,10
% Gesamttrockengewicht			5,64	9,77	7,92	7,90	11,30	9,64	9,26
% Frischgewicht			1,99	3,38	2,45	2,27	3,52	3,24	2,96
Ipm/mg			$3,2 \cdot 10^1$	$4,37 \cdot 10^2$	$3,01 \cdot 10^2$	$2,28 \cdot 10^2$	$81 \cdot 10^3$	$3,92 \cdot 10^2$	$2,7 \cdot 10^1$
<u>Leцитin:fettsäuren</u>		(mg)	8,85	6,15	2,40	2,65	3,20	2,58	2,65
Ipm/mg			$8,4 \cdot 10^1$	$1,42 \cdot 10^2$	$2,29 \cdot 10^2$	$1,17 \cdot 10^2$	$1,31 \cdot 10^2$	$2,04 \cdot 10^2$	$1,77 \cdot 10^2$
<u>Sphingomyelin</u>		(mg)	0,63	0,58	0,37	1,10	0,66	0,86	1,03
% Gesamtlipide			3,72	3,93	1,45	4,60	3,88	6,76	6,10
% Gesamttrockengewicht			1,14	1,27	0,53	1,57	1,40	3,16	2,58
% Frischgewicht			0,40	0,43	0,17	0,46	0,44	1,00	0,95
Ipm/mg			$1,62 \cdot 10^2$	$7,4 \cdot 10^1$				$4,92 \cdot 10^2$	
<u>Sphingomyelinfettsäuren</u>		(mg)	0,70	1,80	0,45	1,13	0,73	1,43	2,00
Ipm/mg			$3,45 \cdot 10^1$	$3,89 \cdot 10^1$	$2,06 \cdot 10^2$		$1,93 \cdot 10^2$	$1,78 \cdot 10^2$	$2,33 \cdot 10^1$

Tab. 2 Zusammenstellung bestimmter Untersuchungsergebnisse der Phosphatidfraktionen und ihrer Fettsäuren aus der ersten Versuchssreihe nach Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung

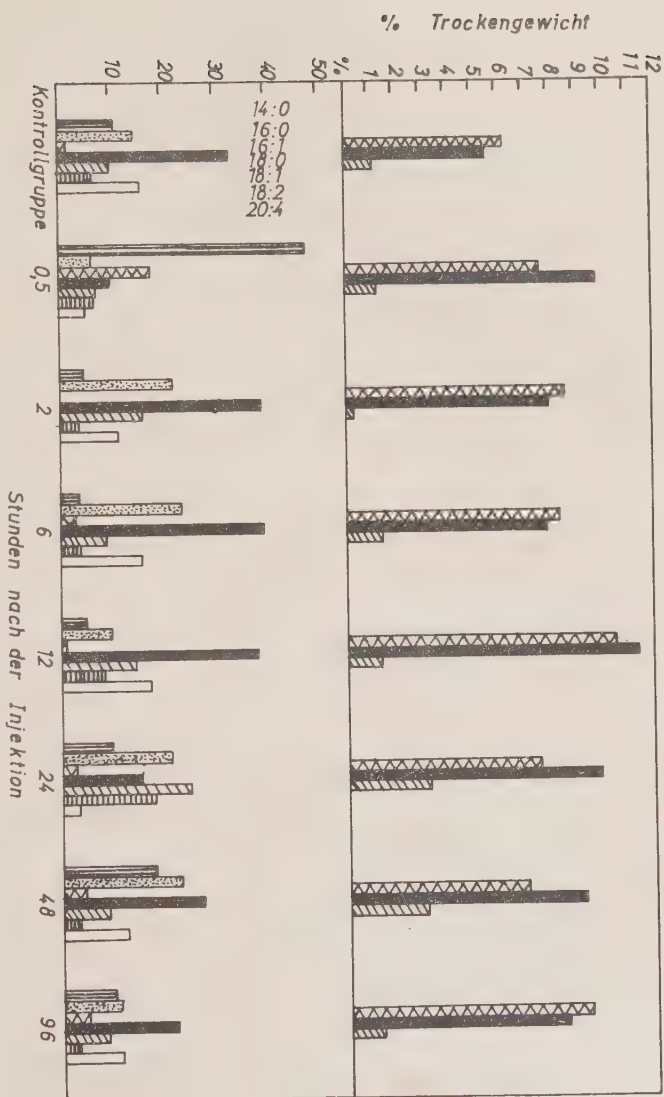


Abb. 6 Der Gehalt der Nebenlinien an Colaminkephalin (doppelt schraffierte Säulen), Lecithin (schwarze Säulen) und Sphingomyelin-Lysolecithin (einfach schraffierte Säulen) ohne Cortisongabe (bezogen auf das Organrockengewicht)

Abb. 5 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion ohne Cortisonbehandlung

damit gegenüber dem Kontrollwert verdoppelt, die folgenden 84 Stunden brachten dann einen kontinuierlichen Abfall auf 8,47 %.

Wiederum einen etwas anderen zeitlichen Verlauf nahm der Sphingomyelingehalt (bezogen auf das Organtrockengewicht). Nach einem Minimalgehalt von 0,5 % 2 Stunden nach der Injektion zeigte sich 6 Stunden nach der Vergiftung der erste Gipfel mit 1,57 % und dann das Maximum mit 3,16 % 24 Stunden nach der Injektion. Drei Tage später lag der Sphingomyelingehalt erneut unter dem Spiegel des Ausgangswerts. Von diesen Ergebnissen imponierte die zeitlich genaue Übereinstimmung des zweiphasigen Verhaltens der Gesamtphosphatide mit dem der Lecithinfraktion. Bei der Colaminkephalinfraktion kam im Vergleich zu den Gesamtphosphatiden nur der erste Gipfel zeitlich etwas verschoben, während bei der Sphingomyelinfraktion der erste fast 6, der zweite 12 Stunden verspätet erschienen war. Daraus geht hervor, daß das zweiphasige Verhalten der Gesamtphosphatide im wesentlichen durch den Lecithingehalt bedingt war.

Die Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung (Tab. 3) in den drei Fraktionen erbrachte eine vermehrte Anreicherung mit hochungesättigten Fettsäuren (Abb. 6, 7, 8) nur innerhalb der ersten 12 Stunden nach der Injektion. Als wichtigstes Beispiel sei die Arachidonsäure herausgegriffen. Bei der Colaminkephalinfraktion kam es zu einem Anstieg der Arachidonsäureanteile mit einem Maximalwert bereits 2 Stunden post injectionem, wobei dieser den Kontrollwert nur wenig übertraf, und einem Minimum 12 Stunden nach der Vergiftung, das etwa 1/8 des Kontrollwertes ausmachte. Weitere 12 Stunden später zeichnete sich erneut eine Zunahme des Arachidonsäuregehaltes auf mehr als die Hälfte des Maximalgehaltes ab und nach vier Tagen betrug dieser nur mehr knapp 1/4 des Kontrolltierwertes. Auch hier ließen die Schwankungen des Arachidonsäuregehaltes ein gewisses zweiphasiges Verhalten innerhalb der ersten 24 Stunden

Tab. 3 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung zu den verschiedenen Zeiten nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung ohne zusätzliche Cortisonbehandlung von

Colaminephalin

lecithin

Sohnpompelin-Lysolecithin

C-Zahl: Doppel- bindungszahl	Kontroll- gruppe	Zeit nach der Injektion (Std.)						
		0,5	2	6	12	24	48	96

14 : 0	15,92	7,34	1,63	3,04	1,88	5,80	7,03	3,85
16 : 0	11,41	12,33	13,12	18,42	17,70	10,91	6,80	26,98
16 : 1	2,35		1,03	2,28	1,40	1,30		3,98
16 : 2						3,47	1,71	
18 : 0	39,20	46,49	43,43	53,78	60,24	34,41	48,49	21,64
18 : 1	11,50	14,10	16,50	2,87	14,11	15,61	9,86	22,98
18 : 2	3,40	2,20	5,54	7,46	2,50	6,06	18,31	16,66
18 : 3				2,19				
20 : 0								
20 : 1				1,11		3,04		
20 : 2								
20 : 3								
20 : 4	16,22	17,54	18,75	8,85	2,17	11,36	6,62	3,91
20 : 5								

14 : 0	9,09	1,65	1,52	1,80	1,45	11,96	2,49	2,82
16 : 0	17,14	9,30	18,13	27,24	16,37	23,07	22,38	25,18
16 : 1	1,02		0,65			2,14		
16 : 2	3,64		1,10					
18 : 0	34,73	37,40	44,19	37,52	41,57	35,47	48,20	45,16
18 : 1	7,73	10,33	13,50	10,90	11,45	10,13	11,60	12,40
18 : 2	7,59	7,47	6,83	6,47	7,32	5,31	6,40	3,57
18 : 3		0,68						1,94
20 : 0								
20 : 1	1,67	0,54						
20 : 2								
20 : 3								
20 : 4	11,58	32,63	14,08	16,07	21,84	10,81	8,96	8,93
20 : 5								

14 : 0	11,12	48,48	5,00	4,14	5,11	9,96	18,12	9,97
16 : 0	15,23	6,89	21,97	23,73	9,84	21,65	23,61	16,18
16 : 1	1,98	18,20		3,44	0,94	3,14	4,17	4,67
16 : 2	1,54					1,32	1,40	4,77
18 : 0	33,36	9,72	39,30	39,48	38,22	15,37	27,40	22,20
18 : 1	10,32	37,3	16,33	8,89	14,73	25,12	9,08	8,49
18 : 2	6,97	7,43	4,25	4,12	8,78	18,31	3,12	2,37
18 : 3								6,76
20 : 0								
20 : 1					4,40			5,01
20 : 2								
20 : 3								
20 : 4	16,20	5,55	11,69	16,20	17,98	2,92	13,10	11,67
20 : 5								5,52

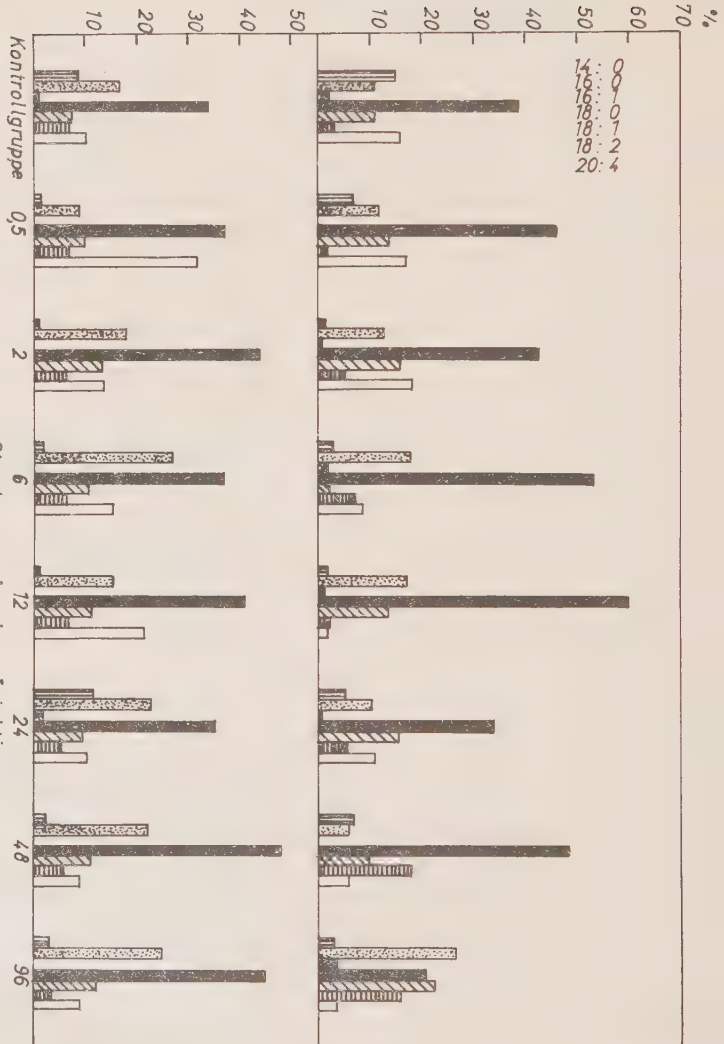


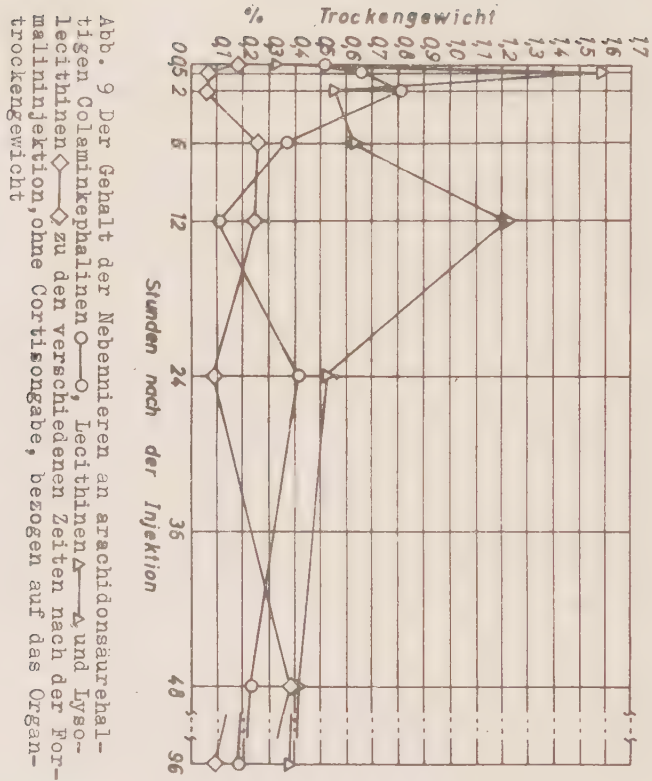
Abb. 7 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Volaminkaphalin-Fraktion ohne Cortisongabe

Abb. 8 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Lecithin-Fraktion ohne Cortisonbehandlung

nach der Injektion erkennen.

Dieses zeigte sich noch ausgeprägter bei der Lecithinfraktion. Bei ihr wurde der höchste Gehalt an Arachidonsäure bereits beim 0,5-Stunden-Wert mit nahezu dem Dreifachen des Kontrollwertes erreicht. Relativ kurze Zeit darauf folgte ein zweiter Gipfel und zwar 11,5 Stunden später, wobei der Gehalt immer noch das Doppelte des Ausgangswertes betrug. Am Ende des ersten Tages lag der Arachidonsäurespiegel knapp über dem Kontrollwertniveau und hatte am vierten Tag diesen kaum unterschritten. Ein wenig anders waren die Verhältnisse bei der Lysolecithinfraktion, deren Arachidonsäuregehalt zwar ebenfalls ein zweiphasiges Verhalten bot, das sich allerdings im Vergleich zu den beiden anderen Fraktionen erst verspätet zeigte. So kam es im vorliegenden Fall zu einem mäßigen Anstieg der Arachidonsäureanteile, wobei der Maximalgehalt erst 12 Stunden nach der Injektion erreicht wurde und den Kontrollwert nur um ein Zehntel überschritt. Beim 24-Stunden-Wert stellte sich der niedrigste Gehalt mit nur $\frac{1}{6}$ des Maximums ein. Weitere 24 Stunden darauf nahm der Gehalt erneut zu, blieb aber deutlich unter dem der Kontrolltiergruppe. Den prozentual größten Anteil am Fettsäuremuster hatte die Stearinsäure mit 43 % bei der Colaminkephalin-, mit 40 % bei der Lecithin- und mit 28 % bei der Sphingomyelinfraktion.

Außer den Fettsäuremustern der einzelnen Phosphatidfraktionen interessierte in diesem Zusammenhang auch der Gehalt der Nebennieren an arachidonsäurehaltigen Phosphatiden zu den verschiedenen Zeiten nach der Formalininjektion. Hierbei wurden die Einzelwerte aus der Fettsäurezusammensetzung unter Berücksichtigung des jeweiligen Phosphatidgehaltes des Organs in Bezug auf dessen Trockengewicht errechnet, wobei von der Voraussetzung ausgegangen wurde, daß pro Mol Phosphatid zwei Fettsäuren gebunden sind (mit Ausnahme der Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion mit nur einer gebundenen Fettsäure). In der Abb. 9 zeigt sich er-



Tab. 4 Der Gehalt der Nebennieren an arachidonsäurehaltigen Colaminkephalinen, Lecithinen und Sphingomyelin-Lysolecithinen in Bezug auf das Organtrockengewicht

Zeit nach der Injektion (Std.n.)	Kontrollgruppe	0,5	2	6	12	24	48	96
Colaminkephalin	0,516	0,667	0,812	0,368	0,115	0,426	0,233	0,183
Lecithin	0,326	1,593	0,558	0,635	1,235	0,532	0,415	0,518
Sphingomyelin- Lysolecithin- Fraktion	0,185	0,070	0,062	0,254	0,252	0,092	0,390	0,093

neut ganz deutlich eine Zunahme der arachidonsäurehaltigen Phosphatide in zwei Phasen innerhalb von 24 bzw. 48 Stunden nach der Injektion (siehe auch Tab. 4).

Bei der Ermittlung der spezifischen Radioaktivität der Phosphatide zeigte die Aktivität der Colaminkephalinfraktion (siehe Abb. 10) mit einer maximalen Syntheserate von 808 Ipm/mg beim 24-Stunden-Wert ein entsprechendes Verhalten zum Gehalt der Colaminkephaline in den Nebennieren. Vergleicht man hierzu die spezifische Aktivität der an das Colaminkephalin gebundenen Fettsäuren (siehe Abb. 11), so läßt sich ebenfalls ein zweiphasiges Verhalten innerhalb der ersten zwei Tage erkennen, allerdings mit einem ^{14}C -Einbaumaximum von 204 Ipm/mg erst 48 Stunden post injectionem. Für die enorme Zunahme in der Syntheserate der Colaminkephaline beim 24-Stunden-Wert dürfte wohl der Glycero-phosphoryl-aminoäthanol-Anteil verantwortlich gewesen sein.

Ganz ähnlich stellte sich die Situation bei der Lecithinfraktion dar. Auch hier verhielt sich in den ersten 48 Stunden nach der Injektion die spezifische Radioaktivität zweiphasig, wobei sich allerdings der höchste ^{14}C -Einbau von 437 Ipm/mg bereits 0,5 Stunden post injectionem zeigte und nach einem fast sechsstündigen Abfall ein erneuter Anstieg auf 392 Ipm/mg beim 24-Stunden-Wert folgte. Diese Zunahme der spezifischen Aktivität fiel dabei zeitlich nicht genau mit der Vermehrung des Lecithingehaltes in den Organen zusammen, da letztere bereits 12 Stunden nach der Vergiftung maximal war. Für Schwankungen in der spezifischen Aktivität der Lecithinfraktion waren in diesem Fall wohl größtenteils die an das Lecithin gebundenen Fettsäuren verantwortlich, da sich ihre Syntheserate entsprechend gleichsinnig zu derjenigen der Lecithinfraktion verhielt. Bei der Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion fand sich die maximale spezifische Radioaktivität mit 492 Ipm/mg nach einem Tag und stimmte hierin mit ihrem mengenmäßigen Maxi-

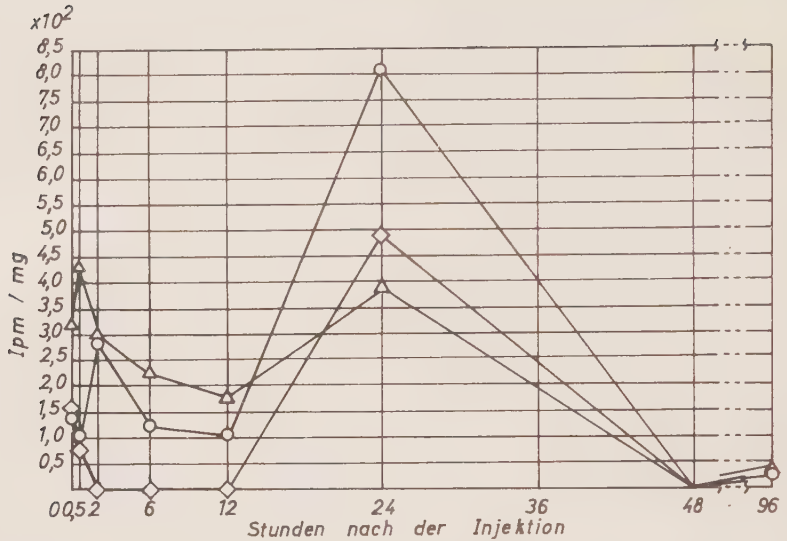


Abb. 10. Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Colaminkephalin-○-○, Lecithin-△-△ und Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion ◇-◇ ohne Cortisongabe

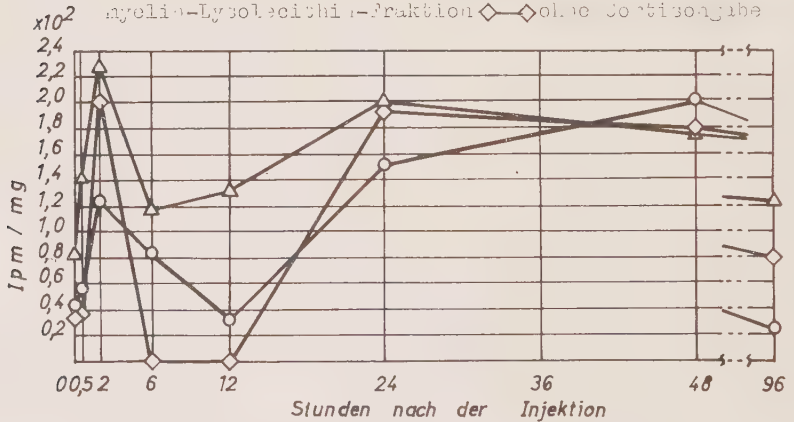


Abb. 11. Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Fettsäuremethylester der Colaminkephalin-○-○, Lecithin-△-△ und Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion ◇-◇ ohne Cortisonebehandlung

malgehalt in den Nebennieren überein. Da die 2-, 6- und 12-Stundenproben während der Aufarbeitung verloren gingen, ließ sich während dieser Zeitspanne kein Vergleich mit dem Verhalten des Sphingomyelingehaltes im Organ ziehen. Dasselbe gilt auch für einen Vergleich mit der spezifischen Aktivität der in dieser Fraktion enthaltenen Fettsäuren. Allerdings zeigte sich eine eindeutige Übereinstimmung 24 Stunden nach der Injektion, da zu diesem Zeitpunkt die Sphingomyelinfettsäuren ebenfalls einen maximalen ^{14}C -Einbau von 193 lpm/mg aufwiesen. Somit dürfte schließlich auch bei der Sphingomyelinfraktion die maximale spezifische Radioaktivität zum größten Teil durch die der Sphingomyelinfettsäuren bedingt gewesen sein. Gleichzeitig mit den erwähnten Untersuchungen wurden die Lipoidwerte im Blutplasma bestimmt, die in nachstehender Tabelle aufgeführt sind.

Zeit nach der Injektion (Std.n.)	Kontroll- gruppe	0,5	2	6	12	24	48	96
Gesamtlipoide (mg %)	316	316	297	437	452	380	642	324
Gesamtcholesterin (mg %)	67,4	68,8	61,3	84,0	105,8	88,0	127,0	61,8
Phosphatide (mg %)	114,8	129,2	84,6	155,3	145,0	127,5	171,1	122,8

Tab. 5 Das Verhalten der Lipotide im Serum nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung

Dabei fiel das nahezu parallele Verhalten der Gesamtlipoide, der Phosphatide und des Gesamtcholesterins auf (siehe Abb. 12). Alle drei Fraktionen wiesen 2 Stunden post injectionem ihr Minimum auf. 12 Stunden nach der Formalinvergiftung hatten die Gesamtlipoide und das Gesamtcholesterin ihren Kontrollwert deutlich überschritten, während dies bei den Phosphatiden bereits 6 Stunden nach der Injektion

der Fall war. Einen Tag nach der Injektion fielen die Werte der drei Fraktionen ab, wobei sie aber immer noch über den Kontrollwerten lagen. Ihr Maximum wiesen sie 48 Stunden nach Versuchsbeginn auf; der Anstieg der Gesamtlipide war

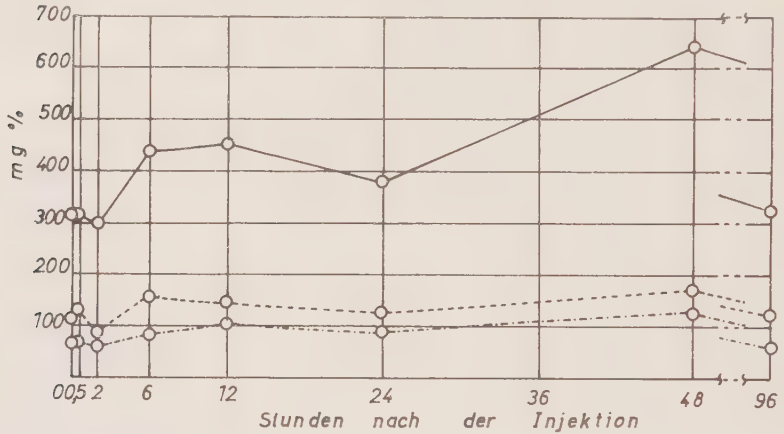


Abb. 12 Das Verhalten des Gesamtlipoid- $\circ$ — $\circ$, Phosphatid- $\circ$ — $\circ$ und Gesamtcholesterinspiegels $\circ$ — $\circ$ im Serum dabei am steilsten. Vier Tage später hatten alle drei Fraktionen ihre Ausgangslage wieder erreicht.

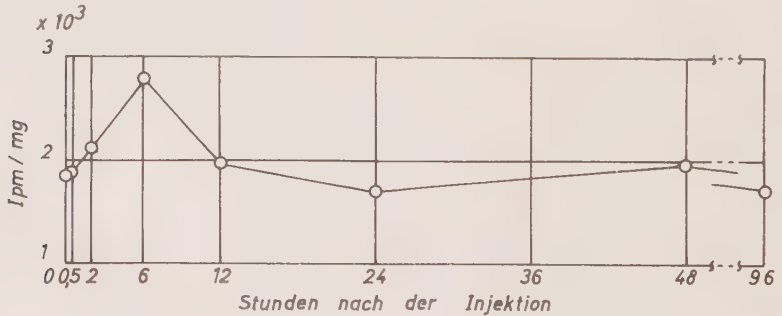


Abb. 13 Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Serum-Gesamtlipide

Die spezifische Radioaktivität der Serumlipide zeigte ihr Maximum mit 2790 Ipm/mg 6 Stunden nach Versuchsbeginn und ihr Minimum mit 1700 Ipm/mg 24 Stunden darnach. Zu diesem Zeitpunkt war die Menge an Gesamtlipiden im Blut entsprechend deutlich vermehrt bzw. fast wieder auf das Kontrolltierniveau abgesunken (siehe Abb. 13).

Untersuchungen nach Formalin-Vergiftung mit anschließender Cortison-Behandlung

Bei dieser Versuchsreihe wurde den Tieren außer einer 2 %igen Formalinlösung Cortison in regelmäßigen Abständen intraperitoneal appliziert. Auch hier fanden sich bei Eröffnung der Leibeshöhle sowohl bei den 48-Stunden-Tieren als auch bei den 96-Stunden-Tieren eine Hyperämie der Gefäße und ein ausgeprägter Ascites im Bauchraum. Im vorausgegangenen Zeitraum konnte lediglich eine allmählich zunehmende Injektion der Bauchgefäße festgestellt werden. In Tabelle 6 sind die Ergebnisse der Organuntersuchung zusammengefaßt. Das Frischgewicht der Nebennieren erreichte nach einem zweistündigen Abfall auf den Minimalwert von 0,0196 % des Körpergewichts bereits 6 Stunden post injectionem den höchsten Wert von 0,024 %, der bis 12 Stunden nach der Formalinvergiftung beibehalten wurde. Weitere 12 Stunden darnach fiel er auf 0,021 % und blieb während der folgenden Versuchsdauer konstant auf diesem Niveau. Noch weniger änderte sich der Gesamtlipidgehalt der Nebennieren. Vom 0,5-Stunden-Wert mit 29,9 % des Organtrökgewichts (siehe Abb. 14) stieg er kontinuierlich auf den maximalen Gehalt von 47,4 % und sank 96 Stunden nach der Formalininjektion auf 40,8 % ab.

Etwas ausgeprägter verhielt sich der Quotient Gesamtlipide/extrahierter Geweberückstand (siehe Abb. 15). Er verringerte sich 0,5 Stunden nach der Formalingabe auf den minimalen Wert von 0,49 und stieg dann 2 Stunden post

Zeit nach der Injektion (Std.)		Kontroll-Gruppe									
Zahl der Tiere	Durchschnittliches Körpergewicht (g)	6	5	6	5	6	6	12	24	48	96
Organfrischgewicht	(mg)	267	229	276	265	319	269	267	235		
Organtrockengewicht	(mg)	94,4	60,6	93,2	86,0	103,2	108,0	101,3	91,6		
Extrahierter Geweberückstand	(mg)	45,5	36,9	44,7	42,2	50,2	46,4	42,9	40,3		
Wasserlösliche Extraktstoffe+	(mg)	10,1	5,6	16,5	11,7	10,9	10,4	10,9	13,9		
Gesamtlipoides++	(mg)	28,8	18,8	32,0	32,1	42,1	51,2	47,5	37,4		
Phosphorgehalt	(%)	1,59	1,68	1,50	1,66	1,41	0,99	1,00	1,07		
Cholesterinestergehalt	(%)	28,4	24,0	35,1	28,3	29,0	35,4	37,7	36,5		
Cholesteringehalt der Cholesterinester	(%)	17,9	14,4	20,6	14,4	17,7	19,0	22,2	21,4		
Gehalt an freiem Cholesterin	(%)	2,94	3,41	1,83	2,07	3,21	2,18	2,60	2,84		

+Als wasserlösliche Extraktstoffe ist der Verdampfungsrückstand der oberen Phase bei der Verteilung nach FOLCH bezeichnet.

++Als Gesamtlipoides ist der Verdampfungsrückstand der unteren Phase bei der Verteilung nach FOLCH bezeichnet.

Tab. 6 Die Zusammensetzung der Nebenriernieren nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2 Älter Formalinlösung bei gleichzeitiger Gabe von 10 mg Solu-Decortin

injectionem auf 0,72, worauf ein relativ mäßiger Anstieg auf die maximale Höhe von 1,11 48 Stunden nach der Injektion folgte. In den anschließenden 48 Stunden sank er erneut etwas ab und betrug am Ende der Beobachtungszeit immerhin noch fast das Doppelte des 0,5-Stunden-Wertes.

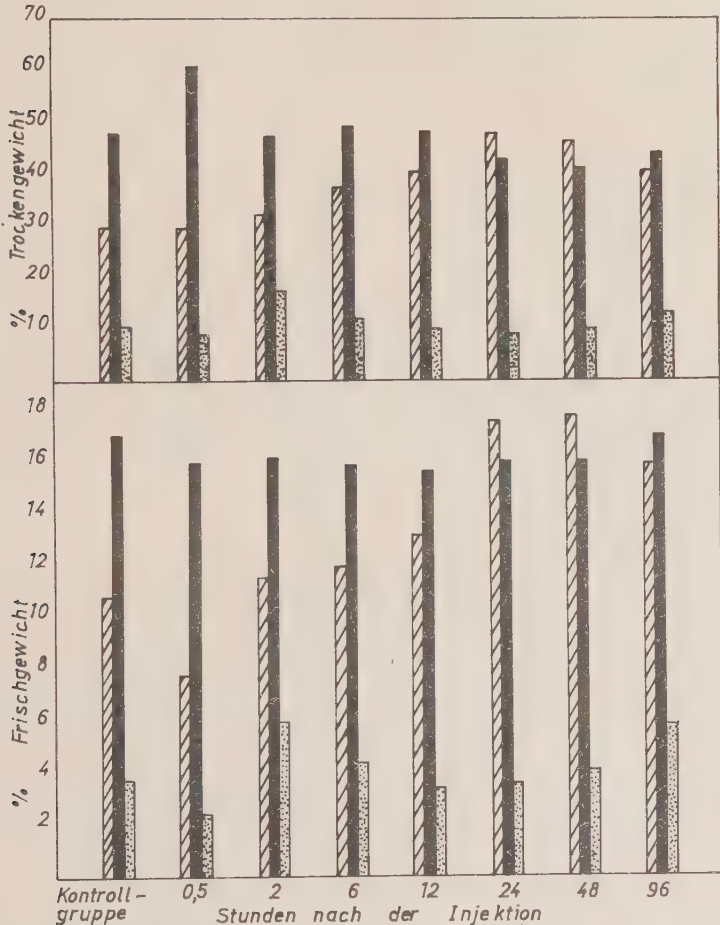


Abb. 14 Der Gehalt der Lebernieren an Gesamtlipiden (schraffierte Säulen), extrahierten Geweberückstand (schwarze Säulen) und wasserlöslichen Extraktstoffen (punktierete Säulen) nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2%iger Formalinlösung. Bezogen auf das Trocken- und das Frischgewicht

Nahezu gleichsinnig dazu verhielt sich der Cholesteringehalt. Von einem Minimalgehalt von 7,12 % stieg er 2 Stunden nach Formalinjgabe zunächst auf 12,0 % und lag damit um 1/7 über dem folgenden 6-Stunden-Wert. Von hier ausgehend stieg nun der Cholesteringehalt stetig an bis zum Maximum von 17,6 % 48 Stunden post injectionem. Vier Tage später war er knapp auf das Doppelte des Kontrolltierwertes abgefallen (die Angaben beziehen sich wieder auf das Organtrockengewicht, siehe Abb. 16). Danach zeigt sich

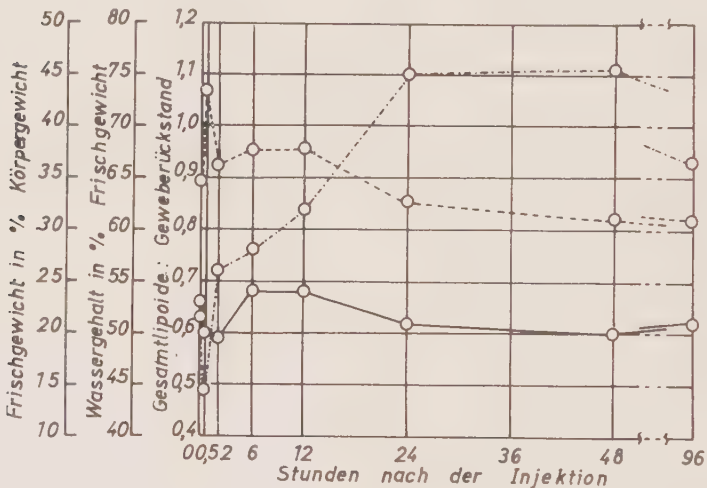


Abb. 15 Das Frischgewicht der Nebennieren bezogen auf das Körpergewicht o—o, der Wassergehalt der Organe bei Bezug auf das Frischgewicht o---o, der Quotient Gesamtlipide/extrahierter Geweberückstand o-.-o

recht eindeutig, daß der Lipidstoffwechsel unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht mit einer Abnahme, sondern mit einer durch die Cholesterinester bedingten Zunahme des Gesamtlipoidgehaltes auf die Formalinvergiftung reagierte. Wahrscheinlich ist dieses Verhalten durch die fortlaufende Cortisonverabreichung bedingt. Eigenartigerweise standen das Verhalten der Cholesterinesterin und das des

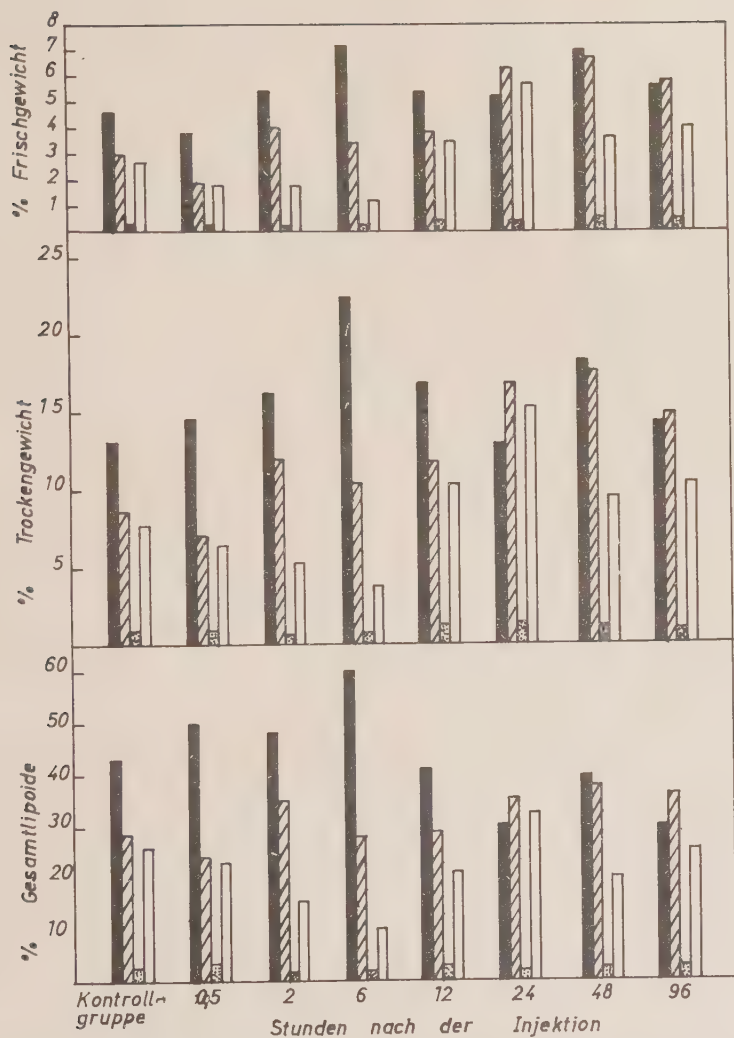


Abb. 16 Der Gehalt der Lebertieren an Phosphatiden (schwarze Säulen), Cholesterinesteren (schraffierte Säulen), freies Cholesterin (punktierte Säulen) und Triglyceriden (leere Säulen)

Quotienten Gesamtlipide/extrahierter Geweberückstand vor allem in der Zeit zwischen dem dritten und vierten Tag nach der Injektion gänzlich im Gegensatz zum beobachteten Krankheitsverlauf, nicht dagegen das Verhalten der Phosphatide (siehe Abb. 16). Ihr Gehalt nahm als Ausdruck gesteigerter Organaktivität 6 Stunden post injectionem auf ein Maximum von 22,4 % zu, um weitere 18 Stunden darauf wieder auf die Höhe des Kontrolltierwertes abzufallen. Interessant war der erneute Anstieg auf einen zweiten Gipfel von 18,4 % 48 Stunden nach der Formalinvergiftung, was genau mit den zu dieser Zeit deutlich ausgeprägten Entzündungserscheinungen übereinstimmen würde (bezogen auf das Organtrockengewicht). Auch nach vier Tagen blieb der Phosphatidgehalt noch über dem Niveau des Kontrolltierwertes und bot wie in der ersten Versuchsreihe einen zweiphasigen Verlauf.

Der Organgehalt an freiem Cholesterin wies kaum nennenswerte Schwankungen auf. Dagegen verhielten sich die Triglyceride (in Bezug auf das Organtrockengewicht) auffallenderweise analog der ersten Versuchsserie, nämlich während der gesamten Zeit nach der Formalinverabreichung den Phosphatiden gegenüber genau entgegengesetzt.

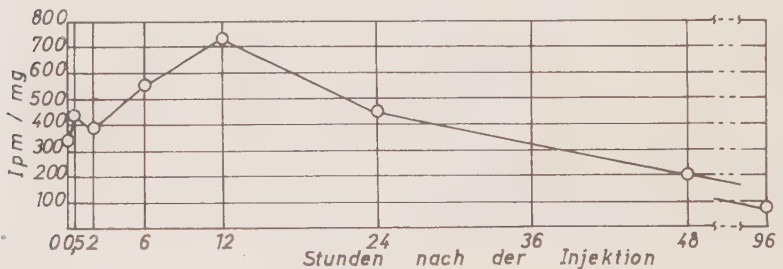


Abb. 17 Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Nebennierengesamtlipide

Der ^{14}C -Acetateinbau in die Nebennierenlipide stieg bis zum 12-Stunden-Wert fortlaufend an, um sich dann bis zum

Versuchsende kontinuierlich zu verringern. Die spezifische Aktivität der Gesamtlipoide lag bei Versuchsbeginn bei 360 Ipm/mg, beim Maximalwert bei 735 Ipm/mg und zuletzt bei nur 175 Ipm/mg (siehe Abb. 17).

Die Untersuchungsergebnisse der Colaminkephalin-, Lecithin- und Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion sind in der Tabelle 7 zusammengestellt und in der Abbildung 18 graphisch wiedergegeben. Wie im ersten Versuch, so ergab sich auch hier bei den einzelnen Phosphatidfraktionen ein biphasischer Ablauf. Nach einem kurzen Anstieg auf 7,45 % 0,5 Stunden nach der Formalinvergiftung blieb der Colaminkephalingehalt 6 Stunden nach der Injektion mit 10,6 % nur knapp unter dem Maximum mit 10,7 %, das sich erst drei Tage nach dem 24 Stunden post injectionem auftretenden Minimum mit 4,85 % einstellte (alle Prozentangaben beziehen sich auf das Organtrockengewicht). Damit stimmte das Verhalten der Colaminkephalinfraktion nur in so weit mit dem der Gesamtphosphatide überein wie sie ihren Minimalgehalt gemeinsam 24 Stunden nach der Formalingabe aufwiesen. Dagegen zeigte die Lecithinfraktion ein zeitlich kongruentes Verhalten mit den Gesamtphosphatiden. Auf den stetigen Anstieg bis zum Höchstgehalt von 10,56 % 6 Stunden post injectionem folgte 18 Stunden später ein Abfall auf 6,5 % und 48 Stunden nach der Formalinvergiftung ein zweiter Gipfel mit 8,9 %. Vier Tage nach der Vergiftung fiel der Lecithingehalt mit 2,9 % deutlich unter den Kontrolltierwert ab (bezogen auf das Organtrockengewicht).

Der Sphingomyelin-Lysolecithingehalt zeigte im Vergleich mit den Ergebnissen der ersten Versuchsserie in den ersten 6 Stunden der Intoxikation ein genau konträres Verhalten. Fand sich im ersten Versuch ein Minimum 2 Stunden nach der Formalinbehandlung, so zeigte sich jetzt zur selben Zeit nach der Vergiftung mit Formalin ein Maximalgehalt von 4,27 %. In der folgenden Zeitspanne bis 96 Stunden nach der Formalinintoxikation stimmte sein Verhalten mit dem in der

Zeit nach der Injektion(Std.)	Kontroll-Gruppe	0,5	2	6	12	24	48	96	
<u>Colaminephalin</u>	(mg)	3,50	3,08	1,25	4,73	4,30	2,9	2,75	1,82
% Gesamtlipide		20,86	25,15	16,30	28,37	19,15	11,10	18,10	22,76
% Gesamttrockengewicht		6,36	7,45	5,62	10,61	7,81	4,85	8,46	10,67
% Frischgewicht		2,26	1,98	1,89	3,42	2,52	1,97	3,22	4,16
Ipm/mg		$1,4 \cdot 10^{-2}$	$1,06 \cdot 10^{-2}$	$1,53 \cdot 10^{-2}$	$3,14 \cdot 10^{-2}$	$1,23 \cdot 10^{-2}$	$1,1 \cdot 10^{-2}$	$1,38 \cdot 10^{-2}$	
<u>Colaminephalinfettsäuren</u>	(mg)	6,86	2,08	1,25	3,05	3,10	2,22	3,18	2,83
Ipm/mg		$4,4 \cdot 10^{-1}$	$8,0 \cdot 10^{-1}$	$2,9 \cdot 10^{-1}$	$2,25 \cdot 10^{-1}$	$1,77 \cdot 10^{-1}$	$1,94 \cdot 10^{-1}$	$2,08 \cdot 10^{-1}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$
<u>lecithin</u>	(mg)	3,10	2,40	1,45	4,72	4,40	3,87	2,9	0,5
% Gesamtlipide		18,50	19,60	18,90	28,25	19,58	14,80	19,12	6,25
% Gesamttrockengewicht		5,64	5,82	6,51	10,56	8,0	6,49	8,92	2,92
% Frischgewicht		1,99	1,55	2,18	3,40	2,58	2,62	3,39	1,14
Ipm/mg		$3,2 \cdot 10^{-2}$	$2,58 \cdot 10^{-2}$	$3,28 \cdot 10^{-2}$	$4,48 \cdot 10^{-2}$	$1,85 \cdot 10^{-2}$	$2,97 \cdot 10^{-2}$		
<u>lecithinfettsäuren</u>	(mg)	8,85	1,90	2,82	5,65	3,33	3,28	4,65	2,4
Ipm/mg		$8,4 \cdot 10^{-1}$	$1,4 \cdot 10^{-1}$	$2,45 \cdot 10^{-1}$	$7,7 \cdot 10^{-2}$	$1,79 \cdot 10^{-1}$	$1,91 \cdot 10^{-2}$	$6,63 \cdot 10^{-1}$	$2,67 \cdot 10^{-2}$
<u>Sphingomyelin</u>	(mg)	0,63	0,59	0,95	0,55	0,60	1,05	0,33	0,12
% Gesamtlipide		3,72	4,85	12,40	3,28	2,67	4,10	2,18	1,50
% Gesamttrockengewicht		1,14	1,43	4,27	1,23	1,09	1,76	1,02	0,71
% Frischgewicht		0,40	0,38	1,45	0,40	0,36	0,71	0,39	0,28
Ipm/mg		$1,62 \cdot 10^{-2}$		$6,48 \cdot 10^{-2}$	$7,58 \cdot 10^{-2}$		$2,3 \cdot 10^{-1}$		
<u>Sphingomyelinfettsäuren</u>	(mg)	0,70	0,40	3,33	3,65	1,13	4,38	3,35	1,78
Ipm/mg		$3,45 \cdot 10^{-1}$	$4,43 \cdot 10^{-1}$	$9,6 \cdot 10^{-1}$	$5,44 \cdot 10^{-2}$	$2,46 \cdot 10^{-2}$	$1,48 \cdot 10^{-2}$	$5,15 \cdot 10^{-1}$	$1,72 \cdot 10^{-1}$

Tab. 7 Zusammensetzung bestimmter Untersuchungsergebnisse der Phosphatidfraktionen und ihrer Fettsäuren aus der zweiten Versuchsreihe nach Injektion von 0,5 ml 2 %igem Formalin und 10 mg Solu-Decortin

ersten Serie wieder überein. So zeigte er einen zweiten Gipfel mit 1,76 % 24 Stunden nach der Injektion und nahm in den letzten drei Tagen nach der Formalingabe wieder ab und zwar in diesem Fall auf den Minimalgehalt von 0,71 % (bezogen auf das Organtrockengewicht). Damit war auch hier das zweiphasige Verhalten der Gesamtposphatide in erster Linie durch die zeitlichen Schwankungen des Lecithingehaltes bedingt.

Bei der Untersuchung der Fettsäurezusammensetzung (Tab. 8) in den drei Phosphatidfraktionen ergab sich diesmal hinsichtlich der Anreicherung mit Polyenfettsäuren ein anderes Bild (siehe Abb. 19,20,21). So kam es bei der Colaminkephalinfraktion zu einem maximalen Anstieg des Arachidonsäuregehaltes mit 17 % schon 0,5 Stunden nach der Formalinvergiftung während sich nur 1,5 Stunden später ein Minimum mit 1,8 % einstellte. Im weiteren zeitlichen Verlauf zeichnete sich 24 Stunden nach der Formalinbehandlung nochmals ein Anstieg bis auf 6,9 % ab. 96 Stunden nach der Intoxikation lag der Arachidonsäuregehalt mit 6 % immer noch deutlich unter den Ausgangswerten. Ein ähnliches Verhalten bot der Arachidonsäuregehalt in der Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion. Auch hier stieg er bereits 0,5 Stunden nach der Injektion auf den Maximalwert von 33,4 % und hatte sich damit gegenüber dem Kontrollwert mehr als verdoppelt. 2 Stunden nach der Formalinverabreichung folgte der Minimalgehalt mit 2,2 % und 22 Stunden später ein erneuter Anstieg bis auf 15 %, der sich 96 Stunden post injectionem noch einmal auf 15,5 % steigerte und damit fast wieder das Kontrollniveau erreichte.

Deutlich entgegengesetzt dazu verhielt sich die Arachidonsäurekonzentration der Lecithinfraktion. Bereits 0,5 Stunden nach der Formalingabe hatte sich der Kontrollwert mit 11,6 % nahezu verdreifacht und nach einem Abfall 6 Stunden nach der Intoxikation auf 19,5 % erfolgte ein weiterer, maximaler Anstieg 24 Stunden post injectionem, der sich

Tab. 8 Die Prozentuale Fettsäurezusammensetzung zu den verschiedenen Zeiten nach i.p.-Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung bei künstlich erhöhtem Blutcortisolspiegel von

Colaminkephalin

Leithin

Sphingomyelin-Lysoleithin

C-Zahl: Doppel- bindungs- zahl	Kontroll- gruppe	Zeit nach der Injektion (Std.)						
		0,5	2	6	12	24	48	96
14 : 0	15,92	11,30	5,85	5,96	4,29	11,17	3,74	6,82
16 : 0	11,41	20,05	23,33	30,53	25,75	14,88	20,70	26,12
16 : 1	2,35	4,11		4,51	2,64			
16 : 2								
18 : 0	39,20	37,77	54,92	42,41	42,67	57,51	56,18	42,88
18 : 1	11,50	7,97	8,36	10,46	14,28	8,56	13,61	13,96
18 : 2	3,40	1,67	5,72	2,31	5,02	0,99	2,63	4,21
18 : 3								
20 : 0								
20 : 1								
20 : 2								
20 : 3								
20 : 4	16,22	17,13	1,82	3,82	5,35	6,89	3,14	6,04
20 : 5								
14 : 0	9,09	176	2,91	2,17	144	119	215	10,53
16 : 0	17,14	11,38	13,81	19,95	12,45	8,42	25,31	23,65
16 : 1	1,02				1,10			7,36
16 : 2	3,64				0,88			
18 : 0	34,73	40,07	18,21	41,80	36,56	39,35	52,97	20,84
18 : 1	7,73	8,38	33,48	10,51	12,65	7,79	8,15	19,60
18 : 2	7,59	5,31	2,78	6,08	6,80	4,52	4,31	3,75
18 : 3								5,71
20 : 0								
20 : 1	1,67				1,31			
20 : 2								
20 : 3								
20 : 4	11,58	33,10	28,81	19,49	26,81	38,73	7,11	6,76
20 : 5								
14 : 0	11,12	28,07	4,51	2,70	12,34	7,37	9,05	15,00
16 : 0	15,23	17,06	27,40	27,43	35,64	21,60	14,85	8,50
16 : 1	1,98		6,58	7,27	3,15	4,20	6,09	5,72
16 : 2	1,54			0,27		3,30	6,01	3,33
18 : 0	33,36	15,14	7,47	20,13	23,68	22,30	20,31	14,65
18 : 1	10,32	4,52	51,32	24,94	12,52	14,69	12,47	12,67
18 : 2	6,97	1,86		3,51	8,52	7,82	2,51	2,38
18 : 3				1,03				10,88
20 : 0								
20 : 1			0,58	6,16			16,60	8,04
20 : 2								
20 : 3								
20 : 4	16,20	33,41	2,23	6,56	4,15	15,04	12,11	15,50
20 : 5								

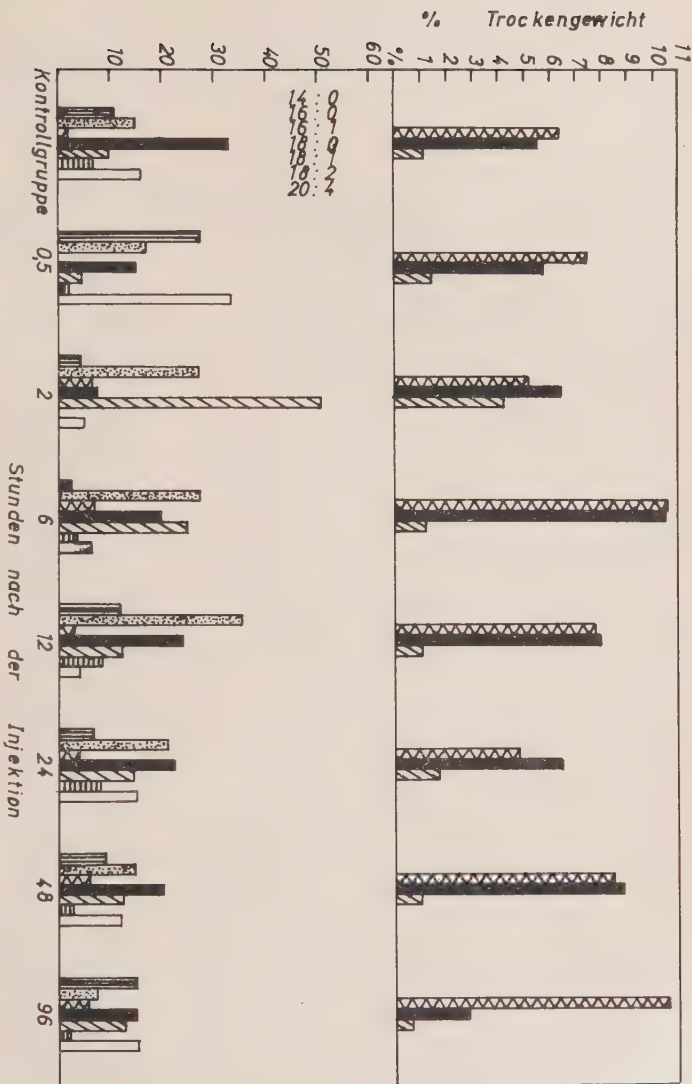


Abb. 18 Der Gehalt der Nebenieren an Colaminkephalin (doppelt schraffierte Säulen), Lecithin (schwarze Säulen) und Sphingomyelin-Lysolecithin (einfach schraffierte Säulen) unter Cortisongabe

Abb. 19 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion unter Cortisonbehandlung

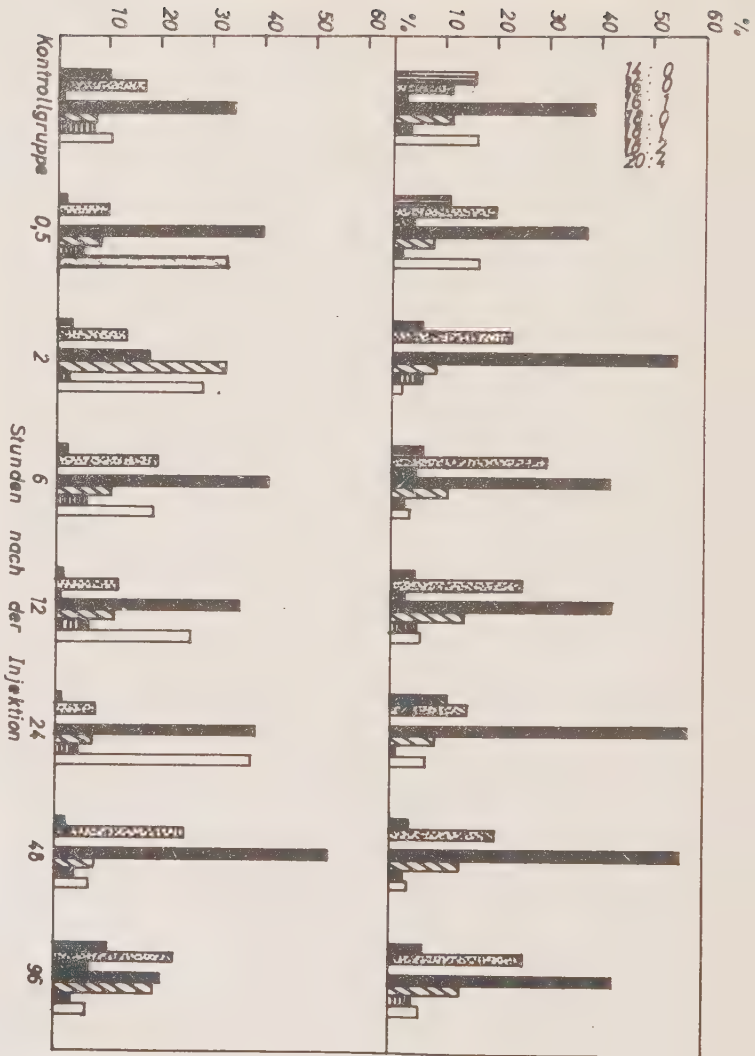


Abb. 20 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Colaminkephalin-Fraktion unter Cortisongabe

Abb. 21 Die prozentuale Fettsäurezusammensetzung der Lecithin-Fraktion unter Cortisonbehandlung

mit 38,7 % gegenüber dem 6-Stunden-Wert fast verdoppelte. In den noch folgenden drei Tagen sank der Arachidonsäuregehalt weit unter den Kontrolltierwert ab und erreichte 96 Stunden nach der Formalininjektion das Minimum mit 6,8 %. Damit zeigte sich dessen zweiphasiges Verhalten bei der Lecithinfraktion am deutlichsten.

Den prozentual größten Anteil an der Fettsäurezusammensetzung hatte bei der Colaminkephalinfraktion die Stearinsäure mit knapp 47 % gegenüber 5,5 % der Arachidonsäure. Bei der Lecithinfraktion hatte sich im Vergleich zur Colaminkephalinfraktion der Arachidonsäureanteil vervierfacht und machte mit 22 % fast $\frac{2}{3}$ des Stearinsäureanteiles aus, der mit 36 % immer noch der höchste war. Anders waren die Verhältnisse in der Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion. Hier hatte die Palmitinsäure mit 21 % den größten Anteil an der Fettsäurezusammensetzung und die Stearinsäure um 1 % überflügelt, während der Arachidonsäureanteil mit 13 % gut doppelt so hoch war wie bei der Colaminkephalinfraktion.

In Abbildung 22 ist das Verhalten der arachidonsäurehaltigen Phosphatide (siehe auch Tab. 9) unter den Bedingungen der zweiten Versuchsreihe dargestellt. Dabei fanden sich die bei der Untersuchung des Fettsäuremusters bezüglich des Arachidonsäuregehaltes erhobenen Befunde noch ausgeprägter bestätigt.

Die Bestimmung der spezifischen Radioaktivität bei den untersuchten Phosphatiden erbrachte ein Verhalten, das nur bedingt mit dem des Organgehaltes der Einzelfraktionen in Einklang zu bringen war (siehe Abb. 23). Zeigte der Colaminkephalingehalt seinen höchsten Wert 6 Stunden nach der Formalinbehandlung, so war der ^{14}C -Einbau in diese Fraktion 6 Stunden später am stärksten. Im Vergleich dazu lag die spezifische Aktivität der an das Colaminkephalin gebundenen Fettsäuren (siehe Abb. 24) 12 Stunden nach der Injektion zwar deutlich über dem Kontrolltierwert, nahm aber erst in den weiteren 12 Stunden bis zur maximalen Impuls-

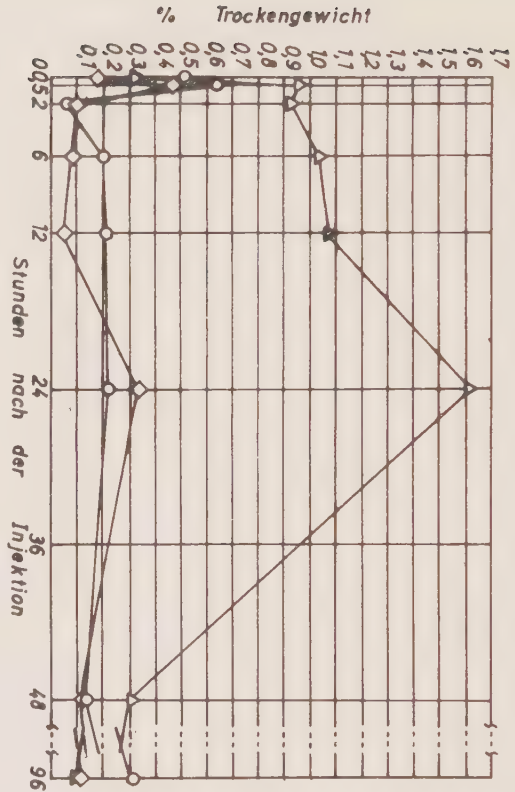


Abb. 22 Der Gehalt der Nebennieren an arachidonsäurehaltigen Colaminkephalinen O—O, Lecithinen Δ und Lysolecithinen ◇ zu verschiedenen Zeiten nach der Formalininjektion unter Cortisonbehandlung, bezogen auf das Organtrockengewicht

Tab. 9 Der Gehalt der Nebennieren an arachidonsäurehaltigen Colaminkephalinen, Lecithinen und Sphingomyelin-Lysolecithinen in Bezug auf das Organtrockengewicht

Zeit nach der Injektion (Std.)	Kontrollgruppe	0,5	2	6	12	24	48	96
Colaminkephalin	0,516	0,638	0,051	0,203	0,210	0,218	0,136	0,322
Lecithin	0,326	0,963	0,938	1,030	1,072	1,630	0,318	0,100
Sphingomyelin- Lysolecithin- Fraktion	0,185	0,477	0,085	0,080	0,045	0,343	0,122	0,110

rate zu. Auch bei der Lecithinfraktion lag das Maximum der spezifischen Aktivität erst bei 12 Stunden nach der Formalingabe, während sich der höchste Lecithingehalt in den Nebennieren schon 6 Stunden post injectionem zeigte. In den anschließenden 3 1/2 Tagen ging die ^{14}C -Einbaurrate in der Lecithin- wie auch in der Colaminkephalinfraktion extrem zurück. Die spezifische Aktivität der an das Lecithin gebundenen Fettsäuren (siehe Abb. 24) zeigte 12 Stunden nach der Formalinverabreichung nahezu eine Verdoppelung gegenüber dem Kontrolltierwert und ihr Maximum ebenfalls erst weitere 12 Stunden später. Eine noch stärkere Diskrepanz zwischen maximalem Phosphatidgehalt einerseits und maximaler spezifischer Radioaktivität andererseits wurde bei der Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion offensichtlich. Hier

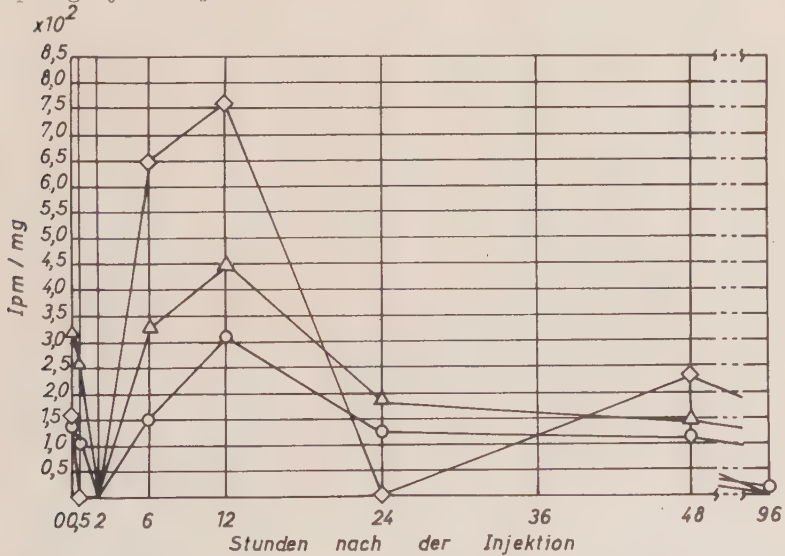


Abb. 23 Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Colaminkephalin- $\circ-\circ$, Lecithin- $\triangle-\triangle$ und Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion $\diamond-\diamond$ unter Cortisonbehandlung

fand sich ersterer bereits 2 Stunden nach der Injektion, letztere dagegen mit der sehr hohen Impulsrate von 758 Ipm/mg erst nach weiteren 10 Stunden. Die spezifische Aktivität der Sphingomyelinfettsäuren (siehe Abb. 24) lag zu diesem Zeitpunkt mit 246 Ipm/mg schon klar unter der Rate der Kontrolltiergruppe, so daß die Fettsäuren der Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion für den enormen ^{14}C -Einbau in diese Phosphatidgruppe 12 Stunden post injectionem wohl kaum in Frage kamen.

Tabelle 10 enthält die Lipoidwerte, die im Blutserum ermittelt wurden. Nach einem initialen Anstieg der Serungesamtlipoide bis auf 371 mg% 0,5 Stunden nach der Formalingabe

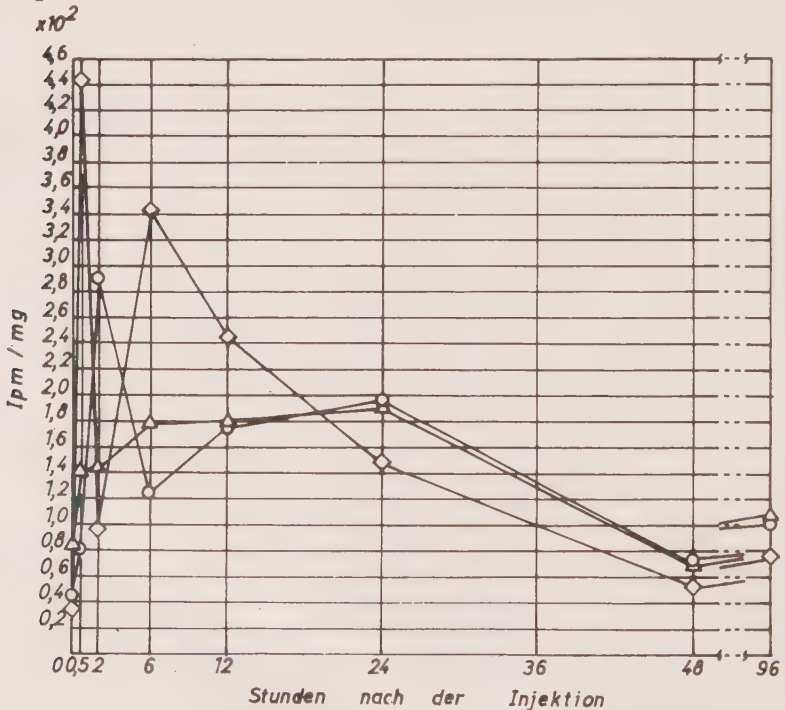


Abb. 24 Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Fettsäuremethylester der Colaminkephalin- $\circ$ - $\circ$, Lecithin- $\triangle$ - $\triangle$ und Sphingomyelin-Lysolecithin-Fraktion $\diamond$ - $\diamond$ unter Cortisonbehandlung

Zeit nach der Injektion (Std.)	Kontroll- gruppe	0,5	2	6	12	24	48	96
Gesamtlipide (mg %)	316	371	363	193	445	535	660	412
Gesamtcholesterin (mg %)	67,4	71,1	66,9	44,9	105,1	97,1	78,0	64,0
Phosphatide (mg %)	114,8	124,5	96,6	109,4	158,0	137,3	178,3	99,1

Tabelle 10 Das Verhalten der Lipide im Serum nach i.p.-
-Injektion von 0,5 ml 2 %iger Formalinlösung bei künstlich
erhöhtem Blut-Cortisonspiegel

wiesen sie 6 Stunden nach dieser Behandlung ihren Minimal-
gehalt mit 193 mg% auf (siehe Abb. 25). Daran anschließend
folgte ein kontinuierlicher Anstieg auf den maximalen Ge-
halt von 660 mg% 48 Stunden nach der Formalinbehandlung.
Weitere 48 Stunden später fiel der Gesamtlipoidspiegel wie-
der auf 412 mg% ab. Bei dem Phosphatidgehalt im Serum (sie-
he Abb. 25) ließen sich keine ausgeprägten Schwankungen

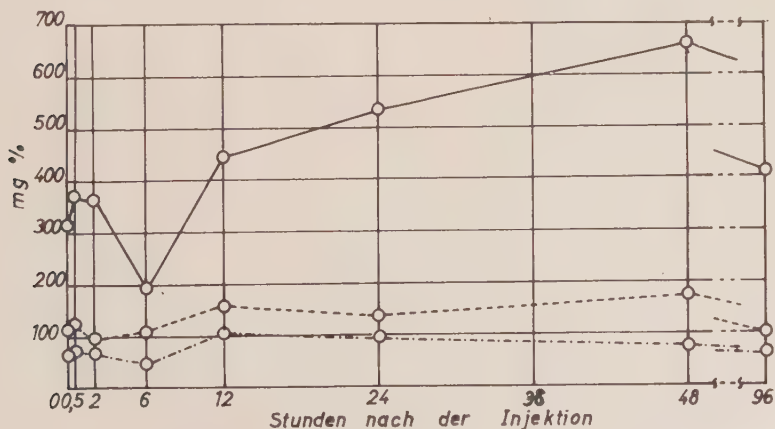


Abb. 25 Das Verhalten des Gesamtlipoid- o—o, Phosphatid-
o---o und Gesamtcholesterinspiegels o···o im Serum

nachweisen. Nach einem Abfall von 124,5 mg% auf den niedrigsten Gehalt von 96,6 mg% zwischen 0,5 Stunden und 2 Stunden nach der Injektion erreichte er 12 Stunden nach der Formalinvergiftung 158 mg% und 36 Stunden darauf den Höchstgehalt mit 178 mg%, um vier Tage nach der Intoxikation auf 99 mg% abzusinken. Ebenfalls geringe Änderungen im Serum zeigte der Gesamtcholesteringehalt. Ausgehend vom 0,5-Stunden-Wert, der mit 71 mg% nur knapp über dem Kontrolltierwert lag, erfolgte anfangs ein Absinken des Gehaltes auf den minimalen Wert von 45 mg% 6 Stunden nach der Formalingabe, um dann 6 Stunden später den höchsten Gehalt von 105 mg% zu erreichen. Hieran schloß sich ein mäßiger Abfall auf 64 mg% 96 Stunden nach der Formalinbehandlung an.

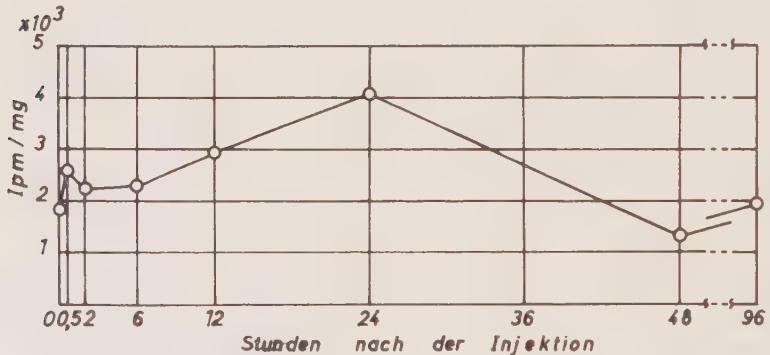


Abb. 26 Das Verhalten der spezifischen Radioaktivität der Serumgesamtlipide

Die spezifische Radioaktivität der Serumlipide erreichte 24 Stunden nach der Formalinvergiftung einen maximalen Betrag von 4100 Ipm/mg und in den folgenden 24 Stunden ein Minimum von 1350 Ipm/mg. Zwei Tage später lag die Syntheserate wieder über dem Niveau des Kontrolltierwertes (siehe Abb. 26).

D I S K U S S I O N

Die vorliegenden Untersuchungen hatten einen durchschnittlichen Phosphatidgehalt in der nichtstimulierten Rattennebenniere von 13 % der Organtrockensubstanz bzw. von 4,7 % des Organfrischgewichtes ergeben. Damit liegen diese Werte innerhalb des von EBERHAGEN und HAUCK (1966) ermittelten Normalbereiches. Nach Ansicht von EBERHAGEN und anderen Autoren soll ein Großteil der Phosphatide in den Nebennieren wie auch in anderen Organen in den membranösen Zellstrukturen vor allem in den Mitochondrien und im endoplasmatischen Retikulum integriert sein. Demzufolge muß also der Phosphatidgehalt der Zelle in dem Maße schwanken wie sich ihre subzellulären Partikel durch Vergrößerung und Verkleinerung, durch Neubildung und Wiederabbau ändern. Wenn es nun zu einem beschleunigten Stoffwechselgeschehen und damit zu einem erhöhten Bedarf an Energieträgern auf Grund einer Organstimulierung kommt, so nimmt in relativ kurzer Zeit die Zahl der Mitochondrien zu und ebenso rasch verdichtet sich das endoplasmatische Retikulum, beides Vorgänge, die chemisch gesehen zur Erhöhung des Phosphatidgehaltes im stimulierten Organ führen und in morphologischer Hinsicht die Abhängigkeit der membranösen Zellstrukturen vom Funktionszustand des Organs demonstrieren.

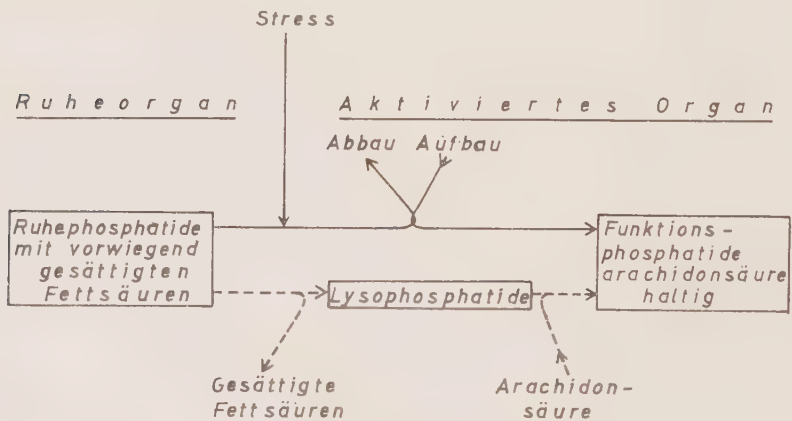
Anhand der von ISHIMARU (1962) elektronenoptisch an ACTH-stimulierten Nebennieren von Ratten gemachten Beobachtungen sollen die in der ersten Versuchsreihe der vorliegenden Arbeit erzielten Lipoidveränderungen diskutiert werden.

Nach Angaben des eben zitierten Autors kommt es dabei bereits 2 - 3 Stunden nach einer ACTH-Gabe in der Zona fasciculata, die für die Glukokortikoidsekretion verantwortlich ist, zu einem Anstieg der Mitochondrienzahl und einer Zunahme der feinen Fettgranula bei gleichzeitiger Verdichtung des endoplasmatischen Retikulums. Eine gesteigerte Ausprägung erfahren diese Veränderungen 6 - 12 Stunden nach der Injektion, bilden sich dann aber in den folgenden 36 Stunden nahezu vollständig zurück. Eine Phosphatidanreicherung ist histochemisch in der stimulierten Nebenniere auch von SYMINGPON (zit. bei RILEY 1963) beobachtet worden. Vergleicht man dazu die in der ersten Versuchsreihe ermittelten Ergebnisse, so dürfte der Vermehrung der Mitochondrien und der anderen subzellulären Membranstrukturen während der ersten 12 Stunden nach der Organstimulierung die in diesem Zeitraum in sehr ausgeprägter Form erfolgte Zunahme der Phosphatide von 13 auf 23 % der Organtrockensubstanz entsprechen. Imponierend ist dabei der steile Anstieg des Phosphatidgehaltes auf 18,6 % der Trockensubstanz bereits eine halbe Stunde nach der Formalininjektion. Diese rasch einsetzende Reaktion im Phosphatidstoffwechsel der Nebennieren dürfte wohl darauf zurückzuführen sein, daß die Formalinvergiftung ein weitaus stärkeres Stimulans gewesen sein mußte als vergleichsweise die von den oben erwähnten Autoren verabreichten ACTH-Mengen. Von besonderer Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die bereits bei der Beschreibung der Ergebnisse erwähnte Tatsache, daß für das zweiphasige Verhalten des Phosphatidgehaltes nach der Formalinintoxikation im wesentlichen der Lecithingehalt verantwortlich ist. Dieser Befund unterstreicht die vorherrschende Stellung

des Lecithins innerhalb der Phosphatide und steht damit in Einklang mit den einleitend aufgeführten Untersuchungsergebnissen von GETZ, BARTLEY, LURIE und NOTTON (1968). Ein weiteres interessantes Ergebnis dieser Autoren sei an dieser Stelle noch einmal herausgegriffen. Sie machten die Beobachtung, daß die Mitochondrien verschiedener Gewebe relativ mehr Colaminkephalin als andere subzelluläre Partikel enthalten. Nimmt man diese Tatsache als Basis für eine Beurteilung des hier beobachteten Verhaltens der Colaminkephalinfraktion, so würde daraus zu schließen sein, daß einerseits der Colaminkephalingehalt in grober Näherung in dem Maße schwankt wie sich die Zahl der Mitochondrien in Abhängigkeit zur Organaktivität ändert, andererseits aber sich die Änderungen der Mitochondrienzahl durch das Verhalten des Colaminkephalingehaltes nach der Organstimulierung zeitlich fixieren lassen.

Ein wichtiges Merkmal der Glycerinphosphatide stellt ihr Bindungsvermögen für Polyenfettsäuren dar. Dabei sprechen nach dem heutigen Stand der Forschungsergebnisse auf diesem Gebiet alle Befunde dafür, daß von diesen Phosphatiden bei chemischen Reaktionen nur diejenigen voll wirksam werden, die mit einer mehrfach ungesättigten Fettsäure in β -Stellung verestert sind. Dementsprechend kam EBERHAGEN (1965) auf Grund zahlreicher Versuche zu der Auffassung, daß Phosphatide, die mit gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren verestert sind, ausschließlich Ruhe- bzw. Strukturphosphatide, arachidonsäurehaltige dagegen zusätzlich noch stoffwechselaktive d.h. Funktionsphosphatide darstellen. Diese Überlegung ist das Ergebnis der von ihm vertretenen These, daß eine beliebig induzierte Änderung der Organaktivität einen Austausch von nichtarachidonsäurehaltigen Phosphatidmolekülen gegen arachidonsäurehaltige zur Folge hat, wobei sich die Arachidonsäureanreicherung mit der Annahme eines veränderten Membranaufbaues in der Zelle erklären läßt. Hierbei soll nach der Vorstellung von

EBERHAGEN der de-facto-Austausch der Ruhe- gegen Funktionsphosphatide in der Weise erfolgen, daß arachidonsäurehaltige Vertreter neugebildet und nach Entfernung der Ruhe- (Struktur-)Phosphatide in die Membran eingebaut werden. Er diskutiert aber außerdem noch einen zweiten Weg wie Schema 2 zeigt, auf dem die Ruhephosphatide durch β -ständige Deacylierung zwischenzeitlich in Lysophosphatide und diese ihrerseits durch Wiederveresterung mit Arachidonsäure in Funktionsphosphatide übergeführt werden. Einbauversuche mit ^{14}C -Acetat konnten diese Möglichkeit der Umwandlung nicht bestätigen. Bei der Interpretation dieses Befundes ging EBERHAGEN von der Voraussetzung aus, daß bei Einhaltung des zweiten Weges die spezifische Aktivität der Phosphatidfettsäuren im Vergleich zu der der Triglyceridfettsäuren geringer sein müßte. Dies war aber nicht der Fall, so daß sich die Höhe des ^{14}C -Einbaues in die Phosphatidfettsäuren am ehesten mit einer de-novo-Synthese der Funktionsphosphatide erklären ließe.



Schema 2 De-facto-Austausch der Ruhe- gegen Funktionsphosphatide und de-novo-Synthese der Funktionsphosphatide nach der Vorstellung von EBERHAGEN.

Im folgenden sollen nun die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe unter dem Aspekt der von EBERHAGEN aufgestellten The-

se diskutiert werden.

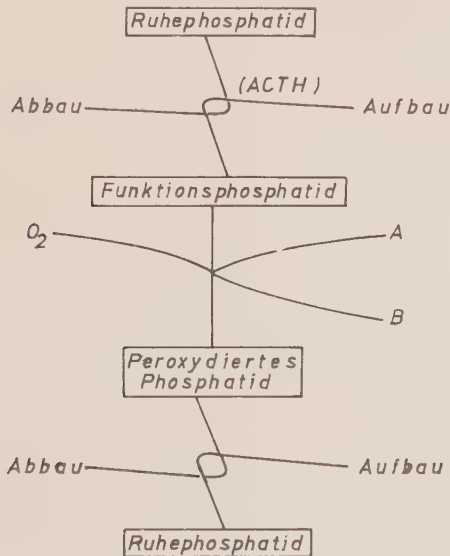
Wie aus dem bisher Gesagten zu entnehmen ist, kommt sowohl dem Arachidonsäuregehalt der Phosphatide als auch dem Verhalten der arachidonsäurehaltigen Phosphatide eine besondere Bedeutung zu. So lag bei der Lecithinfraktion der Arachidonsäuregehalt der Kontrolltiergruppe mit 11,6 % deutlich unter dem der Colaminkephalinfraktion mit 16,2 %. Aus dieser Beobachtung läßt sich ablesen, daß von den Phosphatiden nur die Lecithinfraktion mit ihrem relativ niedrigen Eikosatetraensäuregehalt auf einen Ruhezustand des Organs hindeutet, wohingegen die Colaminkephalinfraktion bereits zu einem großen Teil Funktionsphosphatide enthält. Ein damit im Einklang stehender Befund zeigt sich auch in dem Maße wie die einzelnen Phosphatidfraktionen auf den Formalinreiz hin mit einem Ersatz von nichtarachidonsäurehaltigen Molekülen gegen arachidonsäurehaltige antworten, was im Verhalten der arachidonsäurehaltigen Phosphatide eindeutig zum Ausdruck kommt. So erstaunt es nicht, daß die Geschwindigkeit dieses Umbaues bei der Lecithinfraktion bereits 0,5 Stunden nach der Formalininjektion am größten war. Sie verlangsamte sich bis zur 6. Stunde nach der Formalingabe, um nach weiteren 6 Stunden eine erneute Beschleunigung erkennen zu lassen. Während des zweiten Tages führten gegenläufige Reaktionen zum Abbau der arachidonsäurehaltigen Lecithine, wobei an deren Stelle wieder solche mit gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäureresten traten. Diese Einbaurate der Eikosatetraensäure in die Nebennierenlecithine zeigt also ebenfalls ein zweiphasiges Verhalten wie dies schon vom Lecithingehalt her bekannt ist.

Bei der Colaminkephalinfraktion kommt es trotz des hohen Arachidonsäuregehaltes der Kontrolltiergruppe von 16,2 % auf den Formalinstress hin zu einem beschleunigten Ersatz von nichtarachidonsäurehaltigen Colaminkephalinmolekülen gegen arachidonsäurehaltige mit einer maximalen Umbaurate

zwei Stunden nach der Formalinvergiftung. Aber bereits 6 Stunden nach der Intoxikation erfolgte der Abbau der arachidonsäurehaltigen Colaminkephalinmoleküle, der nach weiteren 6 Stunden sein Maximum erreichte. Nach einer vorübergehenden Verlangsamung des Abbaues 24 Stunden nach der Formalinbehandlung zeigte sich in den letzten zwei Tagen erneut ein Anwachsen der Abbaurate fast bis auf den 12-Stunden-Wert. Die Tatsache, daß der Arachidonsäureverlust der Colaminkephalinfraktion vier Tage nach der Formalinverabreichung immer noch nicht zu Ende gekommen war, erscheint erstaunlich.

In diesem Zusammenhang sei jedoch an die einleitend erwähnten Befunde von ROCHSTEIN und BRISPER (1963) sowie von MAI und Mitarbeiter (1965) erinnert, die eine Verringerung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der mikrosomalen und mitochondrialen Lecithin- und Kephalinfraktion im Verlauf eines Stoffwechselvorganges festgestellt hatten, der durch NADPH_2 bzw. Ascorbinsäure ausgelöst wurde und dessen biologische Bedeutung noch nicht völlig erkannt war. So könnte die Intoxikation durch Inanspruchnahme der Organtätigkeit eine vergleichbare z.B. mit der Hydroxylierung der Steroide gekoppelte Reaktion ausgelöst haben, zumal nach ORRENIIUS und Mitarbeiter (1964) sowie ESTABROOK und Mitarbeiter (1963) das beteiligte Enzym auch in den Mikrosomen der Nebentieren gefunden worden war. Dementsprechend ließe sich der zum Arachidonsäureverlust führende Stoffwechselablauf wie in Schema 3 abgebildet darstellen (zit. nach EBBRHAGEN 1965): arachidonsäurehaltige Funktionsphosphatide ersetzen unter der Wirkung der Formalinvergiftung die vorwiegend gesättigten Phosphatide der Ruhemembranen. Dies ist als einer der Effekte anzusehen, die einen Übergang der "ruhenden" Gewebszelle zur aktiven Form bewirken. Die mit Polyenfettsäuren veresterten Phosphatide werden nun in den Mitochondrien und den Mikrosomen an Reaktionen beteiligt, die zur Bildung typischer Syntheseprodukte

(A $\rightarrow$ B) - hier vielleicht der Steroide - führen. Dabei werden sie als deren Folge selbst zu Lipoperoxiden umgewandelt, die Zellgifte darstellen und als solche in toto oder durch Abbau aus der Zelle entfernt. Bei Fortbestand des Formalinstresses werden derartige Zellgifte durch gleichwertige d.h. arachidonsäurehaltige ausgetauscht. Ist schließlich die Intoxikation abgeklungen, so werden wieder Ruhephosphatide in die Membranen eingebaut.



Schema 3 Zum Arachidonsäureverlust führender Stoffwechselablauf nach BERNAGHI (1965)

BERNAGHI (1965) konnte durch ähnliche Versuche, bei denen bereits ein hoher Nikotinsäuregehalt der Phosphatidfettsäuren vorgegeben war, zeigen, daß eine weitere Erhöhung der Arachidonsäurewerte im Anschluß an die Injektion ausblieb, da die Phosphatide bereits als Funktionsphosphatide ausgebildet und damit zur Beteiligung an A $\rightarrow$ B-Reaktionen geeignet waren. Nahezu analog dazu verhielten sich

hier die Arachidonsäurewerte der Colaminkephalinfraktion, deren geringfügige Zunahme in den ersten zwei Stunden nach der Formalingabe wohl damit zu erklären ist, daß im Gegensatz zu den von EBERHAGEN gemachten Beobachtungen ein bestimmter Teil der Colaminkephalinmoleküle noch nicht in Funktionsphosphatide umgewandelt war. Erstaunlich bleibt aber die Tatsache, daß ein Arachidonsäureverlust nur bei der Colaminkephalinfraktion festzustellen war, während der Arachidonsäuregehalt bei der Lecithinfraktion im Verlauf der gesamten vier Tage nach der Injektion über dem Niveau der Kontrolltiergruppe blieb, so daß von einem Verlust nicht gesprochen werden kann. Dieser Befund ließe sich gut damit begründen - an dieser Stelle sei nochmals auf das Schema 3 verwiesen -, daß es zwar zu einer durch die Formalinvergiftung hervorgerufenen Stimulierung der Nebenniere kommt, ohne daß aber ein Bedarf an Syntheseprodukten ($A \longrightarrow B$) besteht. Hierbei werden zwar in den Nebennieren die Ruhe- gegen die Funktionsphosphatide ausgetauscht, es unterbleibt jedoch die anschließende Peroxydierung und damit die Notwendigkeit, die derart veränderten Moleküle in der Zelle abzubauen. Infolgedessen bleibt der hohe Arachidonsäuregehalt der Lecithinfraktion bestehen.

Als logische Schlußfolgerung resultiert aus der eben gegebenen Interpretation, daß an dem Umbau in Funktionsphosphatide sowohl die Colaminkephalin- als auch die Lecithinfraktion gleichermaßen beteiligt sind, daß aber zur Mitwirkung an $A \longrightarrow B$ -Reaktionen ausschließlich Moleküle der Colaminkephalinfraktion herangezogen werden.

Bei den vorliegenden Untersuchungen zeigte die ^{14}C -Einbaurate in die Lecithinfettsäuren in den ersten 24 Stunden nach der Formalinverabreichung ein gleiches Ausmaß und ein paralleles Verhalten zu der bei den Triglyceridfettsäuren. Der ^{14}C -Einbau in die Colaminkephalinfettsäuren stimmte zwar in seinem Verhalten ebenfalls mit dem des ^{14}C -Einbaues in die Triglyceridfettsäuren überein, seine Höhe blieb jedoch

stets etwas niedriger. Dieser Befund muß allerdings nicht unbedingt gegen eine de-novo-Synthese der Funktionsphosphatide in der Colaminkephalinfraktion sprechen.

Wie bei der Beschreibung der Versuche bereits geschildert, wurde bei den Tieren der zweiten Versuchsgruppe während der ganzen vier Tage nach der Formalinapplikation die Cortisonkonzentration im Blut der Ratten künstlich auf einem erhöhten Spiegel gehalten. Dadurch unterschieden sich die Versuchsbedingungen der zweiten gegenüber der ersten Gruppe grundlegend und es waren unter diesen Voraussetzungen andere Ergebnisse zu erwarten als in der ersten Versuchsreihe.

Die Effekte, die eine erhöhte Cortisonkonzentration im Blut auf die Nebennieren ausübt, wurden von INGLE, KENDALL und ihren Mitarbeitern 1937 entdeckt (zit. nach GAUNT 1965). Sie fanden, daß hohe Dosen eines Nebennierenextraktes bei der Ratte eine Nebennierenatrophie verursachten. Dieser Befund führte dann zur Anerkennung und Definition des heute allgemein bekannten Feed-back-Mechanismus, nach dem das hypophysäre ACTH die Nebennierensekretion stimuliert und die Nebennierenhormone ihrerseits auf die Hypophyse rückwirken und die Produktion von ACTH hemmen. Bei normalem Verlauf wird vom Hypothalamus über das portale Gefäßsystem ein Corticotropin Releasing Factor (CRF) an den Hypophysenvorderlappen abgegeben, der dort die ACTH-Bildung stimuliert. Hierbei ist allerdings noch nicht geklärt, ob die Kortikoide und auch das Cortison hauptsächlich die CRF- oder hauptsächlich die ACTH-Sekretion hemmen. Bedeutungsvoll ist in diesem Zusammenhang, daß der Hemmeffekt von Cortison auf das CRF-ACTH-System durch verschiedene Arten von Stimuli außer Kraft gesetzt werden kann wie z.B. durch Traumen, Vergiftungen etc.. Mit anderen Worten ausgedrückt heißt das, daß der Spiegel der im Blut zirkulierenden Nebennierenhormone einschließlich des Cortisols in Zeiten erhöhten Be-

darf es ungeachtet des Feed-back-Mechanismus steigen kann (zit. nach GAUNT 1965). Den sofortigen Anstieg des Cortisonblutspiegels nach einer Stressbelastung erklärt KAISER (1965) damit, daß es wahrscheinlich zunächst zu einer Hemmung des Abbaues in der Leber kommt. Die genauen Zusammenhänge dieses Problems sind noch nicht bekannt. Möglicherweise regt das in solchen Situationen vermehrt produzierte Nebennierenmarkhormon Adrenalin die Bildung von CRF im Hypothalamus an, das dann seinerseits die ACTH-Produktion stimuliert.

Betrachtet man unter diesem Blickwinkel die vorliegenden Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe, so überrascht es nicht, wenn auch hier als Zeichen gesteigerter Organaktivität eine Zunahme der Phosphatide von 13 auf 22 % der Organtrockensubstanz zu beobachten ist. Erstaunlich ist der Umstand, daß der maximale Phosphatidgehalt bei der "Cortison-gruppe" bereits 6 Stunden früher erreicht wird als bei der Versuchsgruppe ohne Cortisonapplikation. 24 Stunden nach der Formalingabe sinkt er bereits auf den Kontrolltierwert ab, um einen Tag später erneut deutlich anzusteigen. Wie bei der ersten Versuchsreihe ist auch in diesem Fall das Lecithin am zweiphasigen Verhalten der Phosphatide maßgeblich beteiligt. Vergleicht man das Verhalten der Colaminkephalinfraktion in beiden Versuchsreihen, so fällt wieder auf, daß bei der "Cortison-Gruppe" die Colaminkephalinfraktion ihren Maximalgehalt 6 Stunden früher erreicht als bei der ersten Versuchsgruppe. Ein noch ausgeprägteres Bild bietet die Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion, wo sich die zeitliche Differenz auf 22 Stunden ausdehnt. Diese Befunde sprechen dafür, daß der künstlich erhöhte Blutcortisonspiegel eine Reaktion der Nebenniere auf den Stress hin nicht zu unterdrücken vermochte.

Daß von den mehrfach ungesättigten Fettsäuren die α -Linolen- γ -Linolen- ω -6-tetraensäure hinsichtlich der von EDERHAGEN aufgestellten These vom Austausch nichtarachidonsäurehaltiger Ruhephos-

phatide gegen arachidonsäurehaltige Funktionsphospholipide elementare Rolle spielt, ist im ersten Teil der Diskussion bereits hinreichend erörtert worden.

Betrachtet man nun die prozentuale Zusammensetzung der Lecithinfettsäuren in der "Cortison-Gruppe" im Vergleich mit den entsprechenden Ergebnissen der ersten Versuchsreihe, so fällt auf, daß in dem Zeitraum bis 24 Stunden nach der Formalinvergiftung die Arachidonsäureanteile im ersten Falle durchschnittlich höher, beim 2-Stunden-Wert sogar doppelt so hoch liegen wie die der Lecithinfettsäuren der "Ohne-Cortison-Gruppe". Diese Tatsache deutet auf einen gesteigerten Umbau von nichtarachidonsäurehaltigen Lecithinmolekülen in arachidonsäurehaltige im Vergleich zu dem in der ersten Versuchsreihe hin. Auch in diesem Fall läßt sich kein Einfluß des erhöhten Blutcortisonspiegels auf die Organaktivität nachweisen. Ebenso erhält man ein dazu analoges Ergebnis, wenn man diese Werte auf den Gehalt der Organ Trockensubstanz an arachidonsäurehaltigen Lecithinen umrechnet. So findet sich hier als Antwort auf den Reiz wiederum ein Ersatz von derartigen nichtarachidonsäurehaltigen Verbindungen gegen arachidonsäurehaltige. Allerdings nimmt hier die Geschwindigkeit des Umbaues im Gegensatz zu entsprechenden Ergebnissen der ersten Versuchsreihe ausgehend von 0,5 Stunden nach der Formalinbehandlung nahezu stetig zu bis 24 Stunden nach der Vergiftung eine maximale Umbaugeschwindigkeit erreicht ist. Wenngleich die Einbaurate der Eikosatetraensäure in die Lecithinfraktion der "Cortison-Gruppe" ebenfalls ein zweiphasiges Verhalten zeigt, so überrascht es doch, daß es nach dem ersten Tag nicht allein zu einem Abbau der arachidonsäurehaltigen Lecithine kommt, sondern sich vielmehr ein Arachidonsäureverlust in den letzten zwei Tagen manifestiert. Diese Tatsache ist um so bedeutungsvoller als damit gezeigt wird, daß sich an A $\rightarrow$ B-Reaktionen nicht ausschließlich arachidonsäurehaltige Colaminkephalinmoleküle beteiligen, sondern auch solche der

Lecithinfraktion herangezogen werden, wenn auch in bescheidenem Umfang.

Auch bei der Colaminkephalinfraktion der "Cortison-Gruppe" zeigt sich - was den Arachidonsäuregehalt und das Verhalten der arachidonsäurehaltigen Colaminkephaline betrifft - bis 0,5 Stunden nach der Formalininjektion ein übereinstimmendes Bild mit den entsprechenden Ergebnissen in der ersten Versuchsreihe. Erstaunlich ist, daß auch hier der Arachidonsäureverlust bereits vier Stunden früher eintritt als bei der Colaminkephalinfraktion der ohne Cortison gebliebenen Tiere. Dies zeigt sich auch im Verhalten der arachidonsäurehaltigen Colaminkephaline in der "Cortison-Gruppe", wonach bereits 2 Stunden nach der Formalingabe der Abbau dieser Moleküle ein Maximum aufweist. 6 Stunden nach der Intoxikation nimmt die Abbaugeschwindigkeit wieder ab, um bis 48 Stunden nach der Formalinbehandlung fast konstant zu bleiben. In den letzten beiden Tagen erfolgt im Gegensatz zur ersten Versuchsgruppe wieder eine leichte Zunahme dieser Verbindungen.

Will man die eben erörterten Resultate in ihrem Aussagegehalt auf einen gemeinsamen Nenner bringen, so zeigen alle mit großer Deutlichkeit eine ausgeprägtere Reaktion der Nennieren auf die Formalinintoxikation hin als dieses ohne Cortisonverabreichung der Fall ist. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit der biologisch überaus wichtigen Tatsache, daß der Hemmeffekt von Cortison auf das CRF-ACTH-System durch verschiedenartige Stimulantien, in diesem Falle 2 %ige Formalinlösung, nicht zur Geltung kommt. Die Ursachen für ein solches Verhalten des Organismus zu erforschen, bleibt Gegenstand künftiger wissenschaftlicher Arbeiten.

Z U S A M M E N F A S S U N G

- 1) Einem Rattenkollektiv wurde Formalin (0,5 ml 2 %ige Lösung), einem anderen in 6- bzw. 12-stündigen Abständen bis 96 Stunden nach der Formalininjektion zusätzlich 10 mg Solu-Decortin verabreicht. Die Lipoidzusammensetzung der zu verschiedenen Zeiten nach der Formalinvergiftung entnommenen Nebennieren wurde untersucht, wobei die Lipide durch eine kombinierte säulendünnschicht-chromatographische Technik, ihre Fettsäuren gaschromatographisch getrennt wurden.
- 2) Der Phosphatidgehalt der Nebennieren (durchschnittlich 13 % der Organtrockensubstanz bzw. 4,7 % des Organfrischgewichtes) nahm nach der Stimulierung in beiden Versuchsreihen annähernd um den gleichen Betrag deutlich zu, fiel nach dem 1. bis 4. Tag in der Regel wieder auf Kontrolltierwerte ab und zeigte ein zweiphasiges Verhalten. Die Fettsäurezusammensetzung der einzelnen Phosphatidfraktionen änderte sich durch das Verhalten der Arachidonsäure in charakteristischer Weise. Ihr prozentualer Anteil am Fettsäuremuster stieg bei der Colaminkephalin-, Lecithin- und Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion der ersten Versuchsreihe von 16,22 %, 11,6 % und 16,2 % in den Kontrolltierorganen auf 18,8 %

32,6 % und 16,2 % in den bis 6 Stunden nach der Stimulation untersuchten Nebennieren. Bei der Colaminkephalin-, Lecithin- und Sphingomyelin-Lysolecithinfraktion der mit Cortison behandelten Tiere stieg er auf 17,1 %, 33,1 % und 33,4 % in den bis 0,5 Stunden nach der Formalinintoxikation untersuchten Organen an. In beiden Versuchsgruppen fiel er im anschließenden Zeitraum bis 96 Stunden nach der Formalingabe wieder auf die Ausgangswerte ab.

- 3) Für die Durchführung der Versuche wurde zur Ausschaltung von Störeffekten und zur Vereinfachung des Arbeitsganges eine Mikroarbeitsweise angewendet. Diese gestattet die gleichzeitige und praktisch verlustlose Aufarbeitung von mehr als vier Substanzproben.

- 4) Aus den Versuchsergebnissen wurden folgende Schlußfolgerungen gezogen:

Ausgehend von der Tatsache, daß die Phosphatide essentielle Bestandteile der subzellulären membranösen Partikel und in einer noch ungeklärten Weise an Stoffwechselvorgängen beteiligt sind, die zur Bildung typischer Syntheseprodukte ($A \rightarrow B$) - vielleicht der Steroide - führen, wurde das von EBERHAGEN entwickelte Konzept der Ruhe- und Funktionsphosphatide übernommen. Dabei ergab sich in der ersten Versuchsreihe, daß am de-facto-Austausch der Ruhe- gegen Funktionsphosphatide die Colaminkephalin- und die Lecithinfraktion gleichermaßen beteiligt sind, daß aber zur Einschaltung in gewisse noch ungeklärte Stoffwechselabläufe nur arachidonsäurehaltige Colaminkephalinmoleküle herangezogen werden.

Im mit Cortison behandelten Tierkollektiv zeigten die Nebennieren überraschenderweise eine ausgeprägtere Reaktion auf die Formalinvergiftung als ohne Cortisonverabreichung. Außerdem waren - allerdings nur in geringem Maße - auch arachidonsäurehaltige Lecithinmolekü-

le an gewissen zu Syntheseprodukten vom Typ ($A \longrightarrow B$)
führenden Stoffwechselvorgängen beteiligt.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- ANSELL, G.B. und J.N. HAWTHORNE: Phospholipids.Chemistry,
Metabolism and Function. Elsevier
Publ.Co.Amsterdam-London-New York,
1964, S. 244 ff.
- ASANO, A., T. KANESHIRO und A.F. BRODIE: J.Biol.Chem. 240,
895 (1965)
- AULT, W.C. und J.B. BROWN: J.Biol.Chem. 107, 607 (1934)
- BARDIER und BONNE: Compt.rends.biol. (Paris) 55, 355 (1903)
- zit. nach WOLMAN 1964
- BARTLETT, G.R.: J.Biol.Chem. 234, 466 (1959)
- BERNARD, L. und BIGART: Compt.rends.soc.biol. (Paris) 54,
1400 (1902) - zit. nach WOLMAN 1964
- BEUMER, H.: Arch.Exptl.Path.Pharmakol. 77, 304 - zit. nach
WOLMAN 1964
- BÖHLE, E.: Bestimmung der freien Fettsäuren. In: N. ZÖLL-
NER und D. EBERHAGEN: Untersuchung
und Bestimmung der Lipoide im Blut.
Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg-
-New York 1965.
- BOURNE, G.H.: Ciba Found.Colloq.Endocrin. 8, 1 (1955)
- BROWN, J.B.: J.Biol.Chem. 83, 777 (1929)
- CHANG, T.-C.L. und C.C. SWEETLEY: J.Lipid.Res. 3, 170 (1962)
- CRAIG, B.M. und N.L. MURTY: J.Amer.Oil Chem.Soc. 36, 549
(1959)
- DAILEY, R.E., L. SWELL, C.R. TREADWELL und H. FIELD jr.:
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. 105, 4 (1960)

- DAILEY, R.E., L. SWELL und C.R. FREADWELL: Arch.Biochem. 100, 360 (1963)
- DEJEL, jr. et al. (1950) - zit. nach DOUGLASS GEIGY: Wissenschaftliche Tabellen, 6. Aufl. 460, 1960
- DEJEL, D.M. und E. MCILWAIN: Biochem.J. 80 (1961) und J. Neurochem. 8, 246 (1961)
- DRAYER, N.M. und J. LISBRIAN: Biochem.Biophys.Res.Comm. 18, 126 (1965)
- EBERHAGEN, D.: Z.Physiol.Chem. 333, 179 (1963)
- EBERHAGEN, D., F. LINDLAR und N. ZÖLLNER: Z.Ges.Exptl.Med. 137, 447 (1963)
- EBERHAGEN, D. und N. ZÖLLNER: Z.Klin.Chem. 1, 149 (1963)
- EBERHAGEN, D.: Z.Analyt.Chem. 212, 230 (1965 a)
- EBERHAGEN, D. und N. ZÖLLNER: Z.Ges.Exptl.Med. 138, 581 (1965)
- EBERHAGEN, D. und O. HAUCK: Z.Ges.Exptl.Med. 141, 367 (1966)
- EBERHAGEN, D.: Untersuchungen zur Beeinflussung des Lipidstoffwechsels in den Nebennieren von Ratten. Habilitationsschrift, München 1966
- FOLCH, J., M. LEES and G.H.J. STANLEY: J.Biol.Chem. 226, 497 (1957)
- FRIED, R. und J. LOFFMAYR: Klin.Wschr. 41, 727 (1963)
- FUKUDA, H.: Arch.Japan.Chir. 34, 529 (1965)
- GAUNT, R.: Exper.Med.Surgery Supplement issue p. 76 (1965)
- GETZ, G.S., W. BARTLEY, D. LURIE und B.M. NOTTON: Biochem.Biophys. Acta 152, 325 (1968)
- GOORMAGHTIGH, N. und L. ELAUT: Compt.rends.soc.biol. (Paris) 92, 733 (1925) - zit. nach WOLMAN 1964
- GRAY, G.M. und H.G. MACFARLANE: Biochem.J. 81, 480 (1961)
- GREEN, D.E. und S. FLINISCHER: Biochem.Biophys.Acta (amst.) 70, 554 (1963 b)
- GURR, M.I., J.B. FINEAN und J.N. HAWTHORNE: Biochem.Biophys. Acta 70, 406 (1963)
- HECHLER, O. und G. PINCUS: Physiol.Rev. 34, 459 (1954)
- HECHLER, O., M.M. SOLOMON, A. ZAFFARONI und G. PINCUS: Federation Proc. 13, 188 (1954)
- HICASA, I., M. NAGASE, I. FUKUDA und R. MURAOKA: Proc.Symp. Chem.Physiol.Path. 3, 89 (1963)

- HIKASA, Y., M. NAGASE, S. MATSUDA, K. SATOMURA, R. MURAOKA und H. FUKUDA: Arch.Japan.Chir. 32, 381 (1966)
- HOCHSTEIN, P. und L. ERNSTER: Biochem.Biophys.Res.Comm. 12, 388 (1963)
- HOCHSTEIN, P., K. NORDENBRAND und L. ERNSTER: Biochem.Biophys.Res.Comm. 14, 323 (1964)
- HOKIN, L.E. und M.R. HOKIN: Can.J.Biochem.Physiol. 34, 349 (1956)
J.Biol.Chem. 233, 805, 815 (1958)
Nature 184, 1068 (1959)
- ISHIMARU, H.: Arch.Japan.Chir. 31, 536 (1962)
- ITO, T. und R.M. JOHNSON: J.Biol.Chem. 239, 3201 (1964)
- JAMES, J. und L.L. SOLOMON: Federation Proc. 23, 533 (1964)
- KAISER, H.: Cortisonderivate in Klinik und Praxis, 4. Aufl. S. 18, Thieme, Stuttgart, 1965
- KARNOVSKY, M.L. und D.F.H. WALLACH: J.Biol.Chem. 236 (1961)
- KLENK, E. und J. DITTMER: Z.Physiol.Chem. 244, 203 (1936)
- KLENK, E. und E. FRIEDRICHS: Z.Physiol.Chem. 290, 169 (1952)
- KLENK, E. und D. EBERHAGEN: Z.Physiol.Chem. 322, 258 (1960)
- KLENK, E. und H. PFLÜGER: Z.Physiol.Chem. 355, 53 (1953)
- LYNN, W.S. und R. BROWN: J.Clin.Invest. 43, 1282 (1964)
- MACFARLANE, M.G., G.M. GRAY und L.W. WHEELDON: Biochem.J. 77, 626 (1960)
- MARINETTI, G.V., J. ERBLAND und E. STOTZ: J.Biol.Chem. 233, 562 (1958)
- MARTONOSI, A.: Biochem.Biophys.Res.Comm. 13, 273 (1963)
- MAY, H.E., J.L. POYER und P.B. MCCAY: Biochem.Biophys.Res. Commun. 19, 166 (1965)
- MAY, H.E. und P.B. MCCAY: J.Biol.Chem. 243, 2296 (1968)
- MURAOKA, R.: Arch.Japan.Chir. 34, 35 (1965)
- ORRENIUS, S., G. DALLNER und L. ERNSTER: Biochem.Biophys. Res.Comm. 14, 329 (1964)
- POPJAK, G.J.: J.Path.Bact. 56, 485 (1944)
- RIEMENSCHNEIDER, R.W., S.F. HERB und P.I. NICHOLS jr.: J. Amer.Oil Chem.Soc. 26, 371 (1949)
- RILEY, C.: Biochem.J. 87, 500 (1963)
- ROSENHEIM, O. und M.C. TEBB: J.Physiol. (London) 38, Proc. liv. (1909)

- SELYE, H.: Nature (London) 138, 32 (1936)
Brit.J.Exptl.Path. 17, 234 (1936)
Endocrinology 21, 139 (1937)
- SRERL, P.A., I.L. CHAIKOFF und W.G. DAUBEN: J.Biol.Chem.
176, 829 (1948)
- WHITTAM, R.: Ann.Rept.Progr.Chem. 57, 379 (1960)
- WOLMAN, H.: Lipids II. Histochemistry of Lipids in Pathology S. 316 ff. In: Handbuch der Histochemie, herausgegeben von W. GRAUHMANN und K.H. NEUMANN. Gustav-Springer-Verlag, Stuttgart 1964
- WOUNDHOUSE, D.L.: Biochem.J. 22, 1087 (1928)
- ZAFFARO II, A., O. IMCHTER und G. PINCUS: J.Amer.Chem.Soc. 73, 1390 (1951)
- ZAK, B., N. MOSS, A.J. BOYLE und A. ZATKINS: Analyt.Chem. 26, 776 (1954)
- ZÜLLNER, H. und G. WOLFRAM: Klin.Wschr. 40, 1101 (1962)

Für die Überlassung des Themas gilt mein Dank dem Leiter des Isotopenlabors der Medizinischen Poliklinik München, Herrn Privatdozenten Dr. D. Eberhagen, der mit väterlichem Rat und steter Hilfsbereitschaft mir die Schwierigkeiten der umfassenden Arbeit meistern half. Ebenso möchte ich der Chemisch-technischen Assistentin, Fräulein G. Plette, für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der chemischen Untersuchungen meinen aufrichtigen Dank aussprechen.

L E B E N S L A U F

Am 16. November 1944 wurde ich als Sohn des Apothekers Rudolf Semrau und seiner Frau Maria, geb. Wagner, in Memmingen geboren. Dort trat ich 1955 nach dem Besuch der Volksschule in die Oberrealschule ein und schloß meine Schulzeit im Juni 1964 mit der Reifeprüfung ab.

Mit dem Winter-Semester 1964 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Universität München, wo ich im Oktober 1965 das Vorphysikum und im April 1967 das Physikum bestand. Im zweiten klinischen Semester begann ich im Isotopenlabor der Poliklinik München mit der Doktorarbeit und legte am 10. Juni 1970 das medizinische Staatsexamen ab.

Am 1. September 1970 werde ich an einer Berliner Klinik meine Tätigkeit als Medizinalassistent aufnehmen.

